

Que vaut l'Emploi de l'Acétate de Cuivre comme réactif différentiel du glucose et du lactose?

THÈSE

pour l'obtention du Diplôme de Docteur de l'Université de Paris
(Pharmacie)

présentée et soutenue le

1924.

PAR

PAUL TAVERNIER

Pharmacien de 1^{re} classe, Ex-interne des Hôpitaux de Lyon.

JURY

MM. GRIMBERT, *Président.*

BOUGAULT, *Professeur.*

HERISSEY, *Agrégé.*

PARIS

LES PRESSES UNIVERSITAIRES DE FRANCE

49, Boulevard Saint-Michel, 49

1924

Que vaut l'Emploi de l'Acétate de Cuivre comme réactif différentiel du glucose et du lactose?

THÈSE

pour l'obtention du Diplôme de Docteur de l'Université de Paris
(Pharmacie)

présentée et soutenue le 1924.

PAR

PAUL TAVERNIER

Pharmacien de 1^{re} classe, Ex-interne des Hôpitaux de Lyon.

JURY

{ MM. GRIMBERT, *Président.*
BOUGAULT, *Professeur.*
HERISSEY, *Agrégé.*

PARIS

LES PRESSES UNIVERSITAIRES DE FRANCE

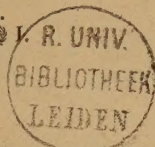
49, Boulevard Saint-Michel, 49

—
1924

Personnel de la Faculté de Pharmacie

ADMINISTRATION

MM. RADAIS, *Doyen*, O. *, I.
 PERROT, *Assesseur*, O. *, I.
 G. DURSANT, *Secrétaire*, *, I.



PROFESSEURS

MM. GUIGNARD, Membre de l'Institut, C. *, I.	Botanique Générale.
VILLIERS, *, I.	Chimie analytique.
H. GAUTIER, O. *, I.	Chimie minérale.
RADAIS, O. *, I.	Cryptogamie et Microbiologie.
BÉHAL, Membre de l'Institut, C. *, I.	Chimie organique.
PERROT, O. *, I.	Histoire Naturelle des Médicaments.
COUTIÈRE, *, I.	Zoologie.
BERTHELOT, Membre de l'Institut, I.	Physique.
GRIMBERT, *, I.	Chimie biologique.
LEBEAU, O. *, I.	Pharmacie chimique.
DELÉPINE, O. *, I.	Hydrologie et Hygiène.
GUERBET, *, I.	Toxicologie.
BOUGAULT, *, I.	Pharmacie galénique.

Doyens honoraires : MM. GUIGNARD, C. *, I. et H. GAUTIER, O. *, I.

Professeur honoraire : M. MOUREU, G. O. *, I.

CHARGÉS DE COURS

MM. TASSILLY, *, I.	Minéralogie.
MARC HONNORAT, *, I.	Législation et Déontologie pharmaceutiques.
LUTZ, *, I.	Cryptogamie.
GUÉRIN, *, I.	Botanique.

AGRÉGÉS EN EXERCICE

MM. SOMMELET, I.	MM. GUÉRIN, *, I.	MM. LAUNOY, *, A.
DAMIENS, A.	LUTZ, *, I.	HÉRISSEY, *, I.
TASSILLY, *, I.	GORIS, *, I.	

CHEFS DES TRAVAUX PRATIQUES

MM. DEFACQZ, *, I.	Chimie générale.
COUSIN, *, I.	Chimie analytique.
SOUÈGES, I.	Micrographie.
LEROUX, I.	Physique.
DEVAL, I.	Microbiologie.
FRANÇOIS, I.	Travaux généraux de 4 ^e année.

Bibliothécaire en Chef : M. BARRAU-DIHIGO, I.

A Monsieur le Professeur GRIMBERT,

Pharmacien-Chef des Hôpitaux,

Membre de l'Académie de Médecine,

Officier de la Légion d'Honneur.

Hommage de respectueuse reconnaissance.

A LA MÉMOIRE DE MON PÈRE

ET DE MA SOEUR

A MA MÈRE

Hommage de vive affection.

A MA FAMILLE ET A MES AMIS

INTRODUCTION

Le dosage du glucose en présence de lactose a été l'objet de nombreuses recherches. Les méthodes proposées reposent sur des principes plus ou moins différents. Celles reposant sur la réduction des sels de cuivre avaient particulièrement attiré notre attention et nous avaient donné l'idée de constituer un réactif sensible uniquement au glucose.

Dans un travail préliminaire, nous avons, tout d'abord, mis au point une méthode de dosage du cuivre, découlant de la méthode de LEHMANN et nous l'avons constamment utilisée au cours de nos essais.

Après avoir passé en revue différents réactifs à base d'acétate de cuivre employés jusqu'alors, nous avons essayé de constituer un nouveau réactif. Malheureusement les résultats n'ont pas répondu entièrement à nos désirs ; mais cette étude nous a procuré l'occasion d'observer un certain nombre de faits et d'établir une comparaison entre le milieu alcalin et le milieu acide.

Nous espérons que ce modeste travail, bien que n'ayant pas atteint son but, aura néanmoins son utilité pour ceux qui s'occupent de la question du dosage du glucose en présence d'autres sucres réducteurs en leur montrant les difficultés résultant de l'emploi de l'acétate de cuivre en milieu acide.

Avant de commencer notre étude nous adressons tout particulièrement nos remerciements :

à M. le Professeur GRIMBERT, qui a bien voulu nous accueillir dans son laboratoire et nous faire l'honneur de présider cette thèse.

à MM. les Professeurs BOUGAULT et HERISSEY qui ont accepté de faire partie du jury de notre thèse.

à M. Paul FLEURY, pharmacien en chef des Asiles de la Seine, préparateur à la Faculté de pharmacie, à qui nous sommes heureux d'apporter ici le témoignage de notre vive reconnaissance pour les précieux conseils qu'il nous a toujours prodigués avec une grande bienveillance.

PREMIERE PARTIE

Méthode de dosage

CHAPITRE PREMIER

CHOIX D'UNE METHODE DE DOSAGE

§ I. — PRELIMINAIRES

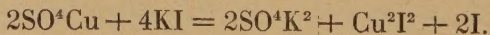
De très nombreuses méthodes ont été proposées pour doser le cuivre contenu dans une solution cuivrique et, par suite, ont été étendues au dosage des sucres réducteurs ; ces derniers ont, en effet, la propriété de réduire les sels de cuivre, de l'état cuivrique à l'état cuivreux. Pour connaître la quantité de sucre réducteur il y a donc deux moyens : soit calculer le cuivre passé à l'état cuivreux, soit calculer celui resté à l'état cuivrique. Parmi les premières méthodes, nous citerons : celle de MOHR-BERTRAND (4) qui utilise les propriétés réductrices de l'oxydule de cuivre sur le sulfate ferrique, celle de BANG (1) qui utilise ces mêmes propriétés réductrices sur l'acide iodique, ou encore celle de FOLIN et Wu (15) qui utilise également les propriétés réductrices

de l'oxydule, mais sur l'acide molybdique en milieu phosphorique ; nous citerons enfin celle de CLARK (9), qui dissout, à l'aide d'acide chlorhydrique concentré, l'oxyde cuivreux formé au sein d'une liqueur cupro potassique ; il se forme du chlorure cuivreux soluble, on ajoute au liquide un excès d'une solution titrée d'iode, l'iodure cuivreux insoluble qui se forme passe à l'état d'iodure cuivrique en présence de l'excès d'iode. On dose cet excès d'iode par de l'hyposulfite de soude titré ; on déduit ensuite la quantité de sucre réducteur de la quantité d'hyposulfite de soude employé.

Toutes ces méthodes dosent, par conséquent, le sel cuivreux ; les autres dosent le sel cuivrique restant après réduction. Parmi celles-ci, nous citerons celle de BAUZIL et BAYER (3) qui dose l'excès de sel cuivrique par la méthode cupro-cyanimétrique et enfin celle mise au point par LEHMANN (25), en 1897, et qui a suscité, par la suite, de nombreuses modifications.

§ II. — METHODE DE HAEN-LEHMANN (iodure seul).

Le principe de la méthode de LEHMANN, qui est le suivant, remonte d'ailleurs à de HAEN (1853) (1) : lorsque, dans une solution acide d'un sel cuivrique, on verse de l'iodure de potassium, il se forme de l'iodure cuivreux et l'iode est libéré.



On peut ensuite titrer cet iode par une solution d'hyposulfite de soude, qui permet ainsi de connaître la teneur en cuivre de la solution cuivrique ; deux dosages

successifs, avant et après réduction, permettent de connaître, au moyen de tables, la quantité de sucre réducteur contenue dans la prise d'essai.

Diverses modifications furent ensuite proposées par de nombreux auteurs : RIEGLER (34) filtre la solution après réduction, lave l'oxydule et dose, dans le filtrat, le cuivre restant ; GARNIER (17) remplace la filtration par la décantation en laissant reposer l'oxydule pendant 2 à 4 heures ; MAQUENNE (25) effectue le dosage sur le liquide non filtré, en présence d'un grand excès d'acide sulfurique ; GRIMBERT (18-19) opère, après filtration, avec addition d'un excès d'hyposulfite de soude au liquide filtré et titrage en retour.

Toutes ces méthodes utilisent l'iodure de potassium seul ; BRUHNS, puis SCHOORL-HOLTHOFF préconisèrent ensuite l'addition de sulfocyanure.

§ III. — METHODE DE BRUHNS

ET SCHOORL-KOLTHOFF

(iodure et sulfocyanure).

BRUHNS (7) en 1917, puis SCHOORL et KOLTHOFF (36), presque en même temps, proposèrent de remplacer une partie de l'iodure par du sulfocyanure ; les avantages de cette modification se résumaient ainsi : suppression de la filtration, netteté du virage, économie.

FLEURY et BOUTOT (14), en 1922, reprennent à leur tour cette méthode et lui font subir quelques légères modifications, avant de lui donner la forme définitive dont nous donnons ici l'exposé.

Technique de la méthode Fleury-Boutot (5)

A. LISTE DES RÉACTIFS NÉCESSAIRES.

1° Liqueur supro-alkaline de BERTRAND, en deux solutions (1) ;

2° Solution d'iodure de potassium à 20 0/0 ;

3° Solution d'acide sulfurique à 20 0/0 en volume ;

4° Solution de sulfocyanure de potassium à 20 0/0 ;

5° Solution d'hyposulfite de soude N/30 ;

6° Solution d'amidon soluble à 1 0/0 environ.

B. MODE OPÉRATOIRE :

Il comporte deux parties :

1° Dosage du cuivre total contenu dans 10 cm³ de liqueur cuivrique.

2° Réduction, et dosage du cuivre non réduit.

1° Dosage du cuivre total :

Dans une fiole conique, par exemple, on verse 10 cm³, très exactement mesurés, de solution A de BERTRAND, 10 cm³ de solution B et 20 cm³ d'eau pour obtenir un volume total de 40 cm³.

On verse, immédiatement l'un après l'autre et en agitant : 1 ou 2 cm³ de solution d'iodure, puis 10 cm³ de solution d'acide sulfurique, puis 10 cm³ de solution de sulfocyanure.

De l'iode se dégage que l'on titre au moyen de la

(1) Liqueur cupro-alkaline de Bertrand en deux solutions .

Solution A.		Liquore B.	
Sulfate de cuivre pur	40 gr.	Sel de Seignette	200 gr.
Eau distillée q. s. p ^r .	1000 cm ³ .	Soude pure en plaques	150 gr.
		Eau distillée q. s. p ^r .	1000 cm ³ .

solution d'hyposulfite, en présence de solution d'amidon comme indicateur. Malgré la teinte rose due aux traces de fer, le virage est très net, avec un peu d'habitude, 1 goutte d'hyposulfite suffisant à faire passer la coloration du bleu au rose.

Soit N le nombre de centimètres cubes d'hyposulfite employés. Ce nombre est fixe pour une même solution cuivrique de sorte qu'on n'a pas besoin de répéter chaque fois cette première partie du dosage.

2° Réduction et dosage du cuivre non réduit :

Dans un ballon ou une fiole conique de 120 à 150 cm³ de capacité, en verre, résistant aux variations brusques de température (Iéna, pyrex ou similaire) on verse :

10 cm³ de solution A de Bertrand, exactement mesurés;

10 cm³ de solution B de Bertrand ;

20 cm³ de liqueur sucrée à doser, renfermant moins de 50 mgr. de glucose. (Si le volume dont on dispose est inférieur à 20 cm³, on complète avec de l'eau distillée le volume à 40 cm³.)

On agite pour mélanger.

Le ballon est plongé jusqu'au col dans un bain-marie bouillant où il est maintenu par une pince fixe ou par une rondelle de plomb.

Après 7 minutes, on le retire et on le porte, sans agiter, dans un récipient contenant de l'eau froide ; puis, toujours sans agiter, on accélère le refroidissement à l'aide d'un courant d'eau froide.

Au bout de 2 ou 3 minutes, le liquide est suffisamment refroidi et on peut faire le dosage du cuivre non réduit en opérant comme ci-dessus :

Les réactifs ayant été mesurés à l'avance dans trois éprouvettes ou trois tubes à essai, on verse, immédiate-

ment l'un après l'autre et en agitant, 1 à 2 cm³ de solution d'iodure, 10 cm³ de solution d'acide sulfurique, 10 cm³ de solution de sulfocyanure.

On titre de même par l'hyposulfite N/30 l'iode dégagé. Soit n le nombre de cm³ d'hyposulfite employés, $N - n$ représentera le nombre de cm³ d'hyposulfite N/30 correspondant au cuivre non réduit.

La table de Guillaumin établie pour une solution de permanganate de potasse N/30 est exacte pour la solution d'hyposulfite.

Cette transformation des sels cuivriques en sulfocyanure cuivreux, à l'aide d'un sulfocyanure alcalin et d'un réducteur, a d'ailleurs tenté quelques auteurs, en particulier ZECCHINI et INCZE, qui utilisèrent le sulfocyanure d'ammonium et l'hyposulfite de soude.

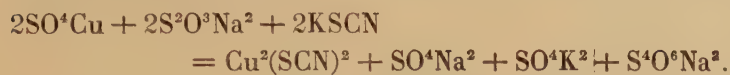
§ IV. — METHODE DE ZECCHINI-INCZE (hyposulfite et sulfocyanure).

En 1899, ZECCHINI (39) donne une méthode de dosage du sulfate de cuivre du commerce ; cette méthode consiste à mettre en présence de sulfate de cuivre une solution d'hyposulfite de soude et de sulfocyanate d'ammoniaque. Le cuivre est précipité à l'état de sulfocyanate cuivreux et l'excès d'hyposulfite dosé avec une solution titrée d'iode.

Cette méthode ne semble pas, d'ailleurs, avoir attiré l'attention ; INCZE (23), en 1915, la reprend à son tour ; pour rendre la méthode plus sensible, il emploie une solution d'iode cinq fois plus faible que celle adoptée par ZECCHINI.

Il remarque, d'autre part, que le sulfate ferreux, qui est une impureté fréquente du sulfate de cuivre, n'a

aucune influence sur les résultats de la réaction que l'on peut résumer ainsi :



Nous avons alors examiné cette méthode en lui apportant quelques petites modifications.

CHAPITRE II

ETUDE D'UNE MODIFICATION DE LA METHODE DE ZECCHINI

§ I. — ESSAI DE LA METHODE

Nous basant sur le principe énoncé par Zecchini, nous avons essayé de constituer, une méthode permettant un dosage pratique des sels cuivriques.

Pour cela, nous avons, tout d'abord, préparé les réactifs suivants :

Liqueur A Bertrand ;

Liqueur B Bertrand ;

Solution d'iode N/10 ;

Solution d'hyposulfite de soude N/10 (1) ;

Sulfocyanure de potassium à 20 0/0 ;

Solution d'amidon soluble à 1 0/0.

Nous avons alors prélevé 10 cm³ de liqueur A, exactement mesurés que nous avons additionnés de 30 cm³ d'eau pour obtenir le même volume que dans la méthode Fleury-Boutot. Nous avons ensuite préparé : 10 cm³ de sulfocyanure de potassium dans une éprouvette, d'une

(1) Nos résultats étant uniquement comparatifs, nous avons employé, pour correspondre à notre solution d'iode N/10, une solution d'hyposulfite de soude N/10, au lieu d'employer une solution d'hyposulfite N/30 comme le font Fleury et Boutot.

part, et 20 cm³ d'hyposulfite de soude N/10, exactement mesurés à la pipette, dans un vase d'Erlenmeyer, d'autre part.

Nous avons versé les réactifs dans l'ordre indiqué plus loin et nous avons titré avec la solution d'iode N/10, en présence de solution d'amidon, comme réactif indicateur ; lorsque la teinte bleue apparaît, nous reversons notre liqueur dans le vase d'Erlenmeyer ayant contenu les 20 cm³ d'hyposulfite de soude, la teinte bleue disparaît ; on ajoute alors à nouveau de la solution d'iode, jusqu'à légère teinte bleue indiquant la fin de la réaction ; le virage est d'ailleurs très net.

Ordre des réactifs

Nous avons cherché dans quel ordre il convenait de verser les réactifs pour obtenir les résultats les plus satisfaisants. Pour pouvoir comparer nos résultats avec ceux obtenus par la méthode Fleury-Boutot, nous avons exprimé nos résultats en centimètres cubes d'hyposulfite de soude consommés (20 cm³ hyposulfite de soude — n cm³ d'iode employés).

	Hyposulfite de soude N/10 (cm ³ consommés)
I 10 cm ³ liqueur A + 10 cm ³ KSCN + 20 cm ³ S ² O ³ Na ²	15,65
II 10 cm ³ liqueur A + 20 cm ³ S ² O ³ Na ² + 10 cm ³ KSCN	16,15
III 10 cm ³ liqueur A + (20 cm ³ S ² O ³ Na ² + 10 cm ³ KSCN) mélangés d'avance	16,05

Pour connaître quelle réaction était la meilleure nous avons employé la méthode Fleury-Boutot, dont nous avons donné l'exposé plus haut, mais en employant l'hyposulfite de soude N/10 au lieu d'hyposulfite de soude N/30 préconisé par les auteurs. En opérant dans les mêmes conditions nous trouvons 16 cm³ 05 d'hypo-

sulfite de soude N/10 nécessaires pour titrer l'iode dégagé. La réaction III semble donc la meilleure puisque nous obtenons les mêmes résultats qu'avec la méthode Fleury-Boutot.

Nous avons ensuite essayé d'effectuer le dosage, en présence de 10 cm³ de liqueur B ; n'ayant obtenu aucune réaction, à cause de l'alcalinité de la liqueur, nous avons été amené, après plusieurs essais, à ajouter 10 cm³ d'acide chlorhydrique au 1/2.

Nous avons alors recommencé nos essais pour examiner dans quel ordre il convient de verser les réactifs en présence de liqueur B.

Dans tous les essais nous avons pris : 10 cm³ de liqueur A et 10 cm³ de liqueur B et nous avons complété le volume à 40 cm³.

Nous avons ensuite employé pour le dosage : 10 cm³ d'acide chlorhydrique au 1/2, 20 cm³ d'hyposulfite de soude N/10 et 10 cm³ de sulfocyanure de potassium à 20 0/0 ; nous obtenons alors les résultats suivants :

HYPOSULFITE DE SOUDE N/10 (cm ³ consommés)		
I	A + B + HCl + (S ² O ³ Na ² + KSCN) mélangés d'avance	16,05
II	» » + HCl + S ² O ³ Na ² + KSCN,	16,20
III	» » + S ² O ³ Na ² + KSCN + HCl,	16,10
IV	» » + KSCN + HCl + S ² O ³ Na ² ,	15,95
V	» » + KSCN + S ² O ³ Na ² + HCl,	16,10
VI	» » + HCl + KSCN + S ² O ³ Na ² ,	16,05
VII	» » + S ² O ³ Na ² + HCl + KSCN,	16,25
VIII	» » + (S ² O ³ Na ² + KSCN) mélangés d'avance + HCl,	16,15
Essai comparatif avec la méthode Fleury-Boutot,		16,05.

Les essais I et VI sont donc ceux qui donnent les résultats les plus satisfaisants ; l'essai I nous ayant donné, par la suite, de meilleurs résultats et offrant plus de sécurité par suite de la rapidité de la réaction, nous avons adopté l'ordre suivant des réactifs.

Dans les 40 cm³ de prise d'essai, verser 10 cm³ d'acide chlorhydrique au 1/2 et ajouter ensuite rapidement et en agitant : 20 cm³ d'hyposulfite de soude N/10 exactement mesurés et 10 cm³ de sulfocyanure de potassium à 20 0/0, préalablement préparés ensemble dans une fiole d'Erlenmeyer : titrer ensuite avec une solution d'iode N/10 en présence de solution d'amidon ; le virage est très net : il passe du blanc ou blanc légèrement rosé au bleu franc au lieu de passer du bleu au rose chair comme dans la méthode Fleury-Boutot : passage assez difficile à saisir. Cette coloration rose chair qui rend délicate la constatation de la fin de la réaction, dans la méthode Fleury-Boutot, est due à la formation de sulfocyanate ferrique en présence des traces de fer contenu dans les réactifs ; nous avons d'ailleurs essayé, mais sans résultat, de masquer cette coloration par l'addition de pyrophosphate de soude. Dans notre méthode, au contraire, cet inconvénient n'existe pas ; les sels de fer sont, en effet, réduits par l'hyposulfite de soude en milieu légèrement chlorhydrique : en solution aqueuse cette réduction n'a lieu qu'à l'ébullition mais, en présence de cuivre, elle se fait immédiatement à froid. Cette réaction a d'ailleurs servi de méthode de dosage des sels de fer et a été appliquée par MOREAU (11) au dosage du perchlore de fer.

Toutefois cette réduction des sels de fer ne consomme pas des quantités appréciables d'hyposulfite de soude, le métal n'existant qu'à l'état de traces et, par conséquent, n'introduit pas d'erreur sensible dans notre méthode.

Nous avons ensuite essayé de faire varier la quantité de sulfocyanate ; avec des quantités inférieures à 10 cm³ de solution à 20 0/0, nous obtenons une réaction incomplète comme l'avait d'ailleurs déjà constaté Boutot ; en

augmentant, au contraire, la quantité de sulfocyanate nous avons une légère absorption d'iode tandis qu'avec 10 cm³ de solution à 20 0/0 nous ne rencontrons pas les mêmes inconvénients ; nous avons donc maintenu 10 cm³. A ce propos, nous signalons qu'il convient de vérifier le sulfocyanate de potassium employé : il nous est arrivé, en effet, d'employer un sulfocyanate altéré qui, dans les conditions de notre expérience, absorbait 0 cm³, 3 d'iode N/10 ; avec un sulfocyanure en bon état, on n'observa, au contraire, aucune absorption d'iode.

§ II. — VERIFICATION DE LA METHODE

Avant de poursuivre notre étude, nous avons fait quelques dosages avec notre méthode et comparative-ment avec la méthode Fleury-Boutot et la méthode de Maquenne. Nous avons exposé précédemment la méthode de Fleury et Boutot ; pour faire des dosages comparatifs avec la méthode de Maquenne (26) nous avons adopté seulement la technique de dosage, la technique de réduction diffère un peu de celle de Boutot. A notre prise d'essai, après refroidissement, nous avons donc ajouté : 20 cm³ d'acide sulfurique à 50 0/0 (en poids) et 5 cm³ de solution d'iodure de potassium à 20 0/0, en agitant fortement : nous avons dosé ensuite l'iode libéré avec l'hyposulfite de soude N/10 en présence de solution d'amidon soluble.

Nous avons ainsi obtenu des résultats comparatifs que nous avons traduits en centimètres cubes de solution d'hyposulfite de soude N/10 consommés.

Nous avons effectué nos dosages d'abord sur des quantités variables de cuivre et ensuite sur le cuivre restant

dans notre prise d'essai après réduction par des quantités variables de glucose.

A. — Dosage de quantités variables de cuivre

Nous avons employé pour ces essais des quantités variables de liqueur A de Bertrand (10,5 et 2 cm³), 10 cm³ de liqueur B de Bertrand et nous avons complété le volume à 40 cm³ ; nous avons effectué ensuite nos dosages par les trois méthodes ; après plusieurs dosages nous obtenons comme moyenne de résultats :

LIQUEUR A (en cm ³)	HYPOSULFITE DE SOUDE N/10 (cm ³ consommés)		
	Méthode Maquenne.	Méthode Fleury-Boutot.	Méthode au KSCN.
10	16,34	16,12	16,18
5	8,22	8,10	8,00
2	3,35	3,20	3,08

Nous obtenons donc des écarts, assez légers en comparant avec la méthode Fleury-Boutot, un peu plus sensibles en comparant avec la méthode de Maquenne ; nous avons alors examiné si, après réduction, nous obtenions également des différences du même ordre.

B. — Dosage du cuivre restant après réduction

Nous avons employé ici, comme l'indique Boutot : 10 cm³ de liqueur A de Bertrand, 10 cm³ de liqueur B de Bertrand, des quantités variables de glucose et nous avons complété le volume à 40 cm³.

Nous avons préparé, pour ces essais, une solution de

glucose à 1 0/0, après avoir vérifié les caractères de pureté du glucose employé : aucune perte d'eau après un séjour de 24 heures à l'étuve à 90° ; point de fusion : 144-145° ; pouvoir rotatoire de la solution : 1° 5 (moyenne de trois mesures), ce qui correspond à une solution de glucose à 0 gr. 996 0/0.

Après un chauffage de 7 minutes au bain-marie, nous avons placé nos fioles contenant les prises d'essai sous un courant d'eau froide ; après refroidissement, nous avons effectué, par les trois méthodes, le dosage du cuivre restant après réduction par 0 gr. 01, 0 gr. 02 et 0 gr. 04 de glucose ; nous obtenons, comme moyenne, les résultats suivants :

HYPOSULFITE DE SOUDE N/10 (centimètres cubes consommés).						
GLUCOSE en poids).	Méthode Maquenne.		Méthode Fleury-Boutot.		Méthode au KSCN.	
		Différence		Différence		Différence
0	16,34		16,12		16,18	
0,01	13,20	3,14	12,77	3,35	12,97	3,21
0,02	10,23	6,11	9,78	6,34	9,98	6,20
0,04	4,57	11,77	4,15	11,97	4,40	11,78

Si nous traduisons en milligrammes de cuivre la quantité de cuivre ramené à l'état cuivreux, nous trouvons : (en multipliant les différences par 6,36 mmg, poids atomique du cuivre)

Glucose	Méthode Maquenne.	Méthode Fleury-Boutot.	Méthode au KSCN.
0,01	19,97	21,30	20,41
0,02	38,85	40,32	39,43
0,04	74,85	76,12	74,92

Nous obtenons donc des résultats sensiblement mé-

dians entre ceux obtenus par la méthode de Maquenne et ceux obtenus par la méthode de Fleury-Boutot et nous pouvons considérer que notre méthode donne de bons résultats.

Pour avoir une idée de la méthode, nous exposons ici quelques-uns des résultats bruts obtenus par les trois méthodes pour 10 cm³ de liqueur A et pour le cuivre restant après réduction par 0 gr. 02 et 0 gr. 04 de glucose.

HYPOSULFITE DE SOUDE N/10
centimètres cubes consommés.

Glucose	Méthode Maquenne.	Méthode Fleury-Boutot.	Méthode au KSCN.
0	16,30	16,10	16,18
0	16,30	16,15	16,20
0	16,35	16,15	16,20
0	16,40	16,10	16,15
0,02	10,15	9,70	10,00
0,02	10,25	9,80	9,90
0,02	10,30	9,85	10,03
0,04	4,55	4,15	4,40
0,04	4,60	4,10	4,40

Les écarts observés sont donc peu importants et comme nous obtenons, pour la réduction, des résultats satisfaisants, nous continuerons à employer notre méthode.

§ III. — ETUDE DE LA REACTION

Notre méthode repose donc sur le dosage des ions cuivriques ; l'acide chlorhydrique ajouté à la liqueur n'agit ici que pour acidifier le milieu ; l'oxydule passe à l'état de chlorure cuivreux et le sulfate de cuivre restant passe à l'état de chlorure cuivrique. Pour vérifier si, en effet,

l'ion cuivreux n'avait aucune influence sur notre dosage, nous avons ajouté à une prise d'essai de notre liqueur, 0 gr. 10 d'oxydule de cuivre : en opérant rapidement, nous n'avons obtenu, dans plusieurs essais, aucune différence entre le dosage avec oxydule et le dosage sans oxydule ; ce dernier ne paraît donc avoir aucune influence dans notre dosage à la condition d'opérer rapidement ; le chlorure cuivreux est, en effet, un corps très instable qui se réoxyde facilement ; c'est d'ailleurs, ce que nous avons observé. En laissant agir l'acide chlorhydrique quelques minutes avant d'ajouter l'hyposulfite et le sulfocyanure, nous avons constaté une augmentation du *sel cuivrique*.

Voici, d'ailleurs, les résultats obtenus en ajoutant l'hyposulfite de soude et le sulfocyanure, après avoir laissé l'acide chlorhydrique 5 ou 10 minutes en contact avec la prise d'essai.

cm ³ d'hyposulfite de soude N/10 consommés :	
cuivre total.	après réduction par 0 gr. 02 de glucose.
immédiatement : 16,10	9,90
après 5 minutes : 16,10	10,00
après 10 minutes : 16,10	10,25

Il n'y a donc aucun changement pour le dosage du cuivre total ; mais, après réduction, le chlorure cuivreux formé se réoxyde si on n'opère pas immédiatement, ce qui fausse les résultats.

D'autre part, si on n'effectue pas le dosage immédiatement après avoir ajouté l'hyposulfite de soude et le sulfocyanure, il y a une plus grande absorption d'iode, l'acide chlorhydrique réagissant sur l'hyposulfite de soude en excès pour donner SO² qui absorbe, comme on le sait,

une plus forte quantité d'iode que l'hyposulfite de soude; on aura donc, si l'on calcule, à l'aide d'une solution d'iode, l'hyposulfite de soude absorbé par la solution cuivrique, une erreur par défaut :

Les résultats sont exprimés en cm^3 d'hyposulfite de soude consommés.

cuivre total.	après réduction par 0 gr. 02 de glucose.
immédiatement : 16,10	9,90
après 5 minutes : 15,95	8,50
après 10 minutes : 15,85	7,95

Il ressort donc clairement de toutes ces expériences que l'addition d'acide, d'hyposulfite et de sulfocyanure doivent être faites très rapidement et le dosage doit être effectué immédiatement.

Pour augmenter la sensibilité du dosage nous avons essayé d'employer une solution d'iode N/20. Nos résultats ont été sensiblement les mêmes qu'avec la solution d'iode N/10 ; nous emploierons donc la solution d'iode N/20 en utilisant la technique suivante.

§ IV. — TECHNIQUE DE LA METHODE

A. — RÉACTIFS NÉCESSAIRES :

- 1° Liqueur A de Bertrand.
- 2° Liqueur B de Bertrand.
- 3° Solution d'iode N/20.
- 4° Solution d'hyposulfite de soude N/10.
- 5° Sulfocyanure de potassium à 20 0/0.
- 6° Solution d'acide chlorhydrique au 1/2 $\left\{ \begin{array}{l} \text{HCl off. 1 vol.} \\ \text{Eau} \quad \quad 1 \text{ vol.} \end{array} \right.$
- 7° Solution d'amidon soluble à 1 0/0.

B. — MODE OPÉRATOIRE :

Il comporte, comme avec la méthode Fleury-Boutot, deux parties :

1° Dosage du cuivre total.

2° Dosage du cuivre restant après la réduction.

1° *Dosage du cuivre total.*

Dans une fiole conique, verser 10 cm³ exactement mesurés de solution A de Bertrand, 10 cm³ de solution B et 20 cm³ d'eau distillée afin d'obtenir un volume total de 40 cm³.

Préparer ensuite : d'une part, 10 cm³ d'acide chlorhydrique au 1/2 ; d'autre part, dans un vase d'Erlenmeyer, 20 cm³ d'hyposulfite de soude N/10 exactement mesurés et 10 cm³ de sulfocyanure de potassium à 20 0/0.

Verser, alors, dans la fiole contenant la liqueur de Bertrand, l'acide chlorhydrique au 1/2 et immédiatement, après une agitation très rapide, le mélange d'hyposulfite de soude et de sulfocyanure ; une partie de l'hyposulfite est réduite et passe à l'état de tétrathionate pendant que le cuivre passe à l'état de sulfocyanure cuivreux ; l'excès d'hyposulfite de soude est dosé au moyen de la solution d'iode N/20, en présence de solution d'amidon, comme réactif indicateur. Lorsque la teinte bleue apparaît, verser le contenu du flacon dans le vase d'Erlenmeyer ayant contenu l'hyposulfite de soude, la teinte bleue disparaît ; ajouter à nouveau la solution d'iode jusqu'à apparition de teinte bleue ; soit n le nombre de centimètres cubes de solution d'iode employés.

2° *Dosage du cuivre après réduction.*

Dans une fiole résistant aux brusques variations de température, on verse, comme précédemment :

10 cm³ de solution A exactement mesurés,
10 cm³ de solution B,
20 cm³ de liqueur sucrée à doser, renfermant moins de 0 gr. 50 de glucose (Si le volume dont on dispose est inférieur à 20 cm³, compléter avec de l'eau distillée pour avoir un volume total de 40 cm³).

Mélanger et plonger la fiole dans un bain-marie bouillant.

Après 7 minutes, on retire la fiole du bain-marie et on la porte dans l'eau froide, comme le conseille Boutot. Lorsque le mélange est complètement refroidi, on opère le dosage, comme nous l'avons indiqué plus haut ; on titre également par la solution d'iode N/20 l'hyposulfite de soude en excès : soit n' le nombre de centimètres cubes d'iode N/20 employés. On aura $n' - n =$ quantité d'iode N/20 correspondant au cuivre réduit.

Au cours de nos dosages, nous exprimerons le cuivre réduit en centimètres cubes d'iode N/20 ; cette solution correspond d'ailleurs à une solution de cuivre N/20.

Pour transformer ces résultats en cuivre ou en Cu²O, il suffira de multiplier les résultats indiqués par 0,00318 pour obtenir le résultat en cuivre et par 0,00358 pour obtenir le résultat en Cu²O.

Conclusion

La méthode que nous proposons semble donc, si l'on s'en rapporte aux expériences énoncées précédemment, donner de bons résultats, à condition d'opérer rapidement. Comme le terme de la réaction est beaucoup plus visible avec cette méthode qu'avec la méthode Fleury-Boutot, nous l'avons préférée à cette dernière.

ANNEXE

Considérations théoriques sur quelques méthodes de dosage des sels cuivriques par réduction à l'état cuivreux

I. — *Méthode de Haen (à l'iodure)*. — Quand on traite une solution de sel cuivrique par un iodure ou l'acide iodhydrique, on peut obtenir, selon les conditions, soit de l'iodure cuivrique CuI^2 , soit de l'iodure cuivreux Cu^2I^2 , soit un mélange des deux corps.

Pour qu'il y ait formation d'iodure cuivreux, il faut nécessairement qu'au préalable le sel cuivrique passe à l'état cuivreux. Cette réduction est corrélative d'une oxydation qui se fait aux dépens d'une partie de l'acide iodhydrique (libération d'iode). Une autre partie de l'acide iodhydrique provoque l'insolubilisation, sous forme de Cu^2I^2 , du sel cuivreux formé.

Cette réaction donne lieu à un équilibre et, si l'on se place dans les conditions telles que tout le cuivre passe à l'état d'iodure cuivreux, on peut, en dosant l'iode libéré, connaître la quantité de sel cuivrique existant au préalable dans la solution. — C'est le principe de la méthode de Haen.

On voit que, dans cette réaction, l'acide iodhydrique joue un double rôle : réduction du sel cuivrique en sel cuivreux, insolubilisation du sel cuivreux formé.

II. — *Méthode de Bruhns, Schoorl-Kolthoff (sulfocyanure et iodure)*. — Si, à une solution de sel cuivrique, on ajoute un sulfocyanure alcalin, il se produit un mélange de sulfocyanure cuivreux et de sulfocyanure cuivrique. Cette formation d'un sel cuivreux ne peut avoir

lieu que grâce à l'oxydation corrélatrice d'une partie du sulfocyanure alcalin (formation d' HCN et SO^4).

On retrouve donc ici le même schéma que pour le cas de l'iodure : double rôle du sulfocyanure, agissant à la fois comme réducteur du sel cuivrique et comme insolubilisant le sel cuivreux formé.

Cependant cette réduction n'est que partielle. C'est pourquoi, lorsqu'on veut doser un sel cuivrique par pesée du sulfocyanure cuivreux, on traite le mélange de sel cuivrique et de sulfocyanure alcalin par un courant de gaz sulfureux qui agit exclusivement comme réducteur en s'oxydant à l'état de sulfate, le rôle d'insolubilisant restant dévolu au sulfocyanure.

Si la réaction était régulière, il serait donc possible, d'après la quantité d'acide sulfurique formé au dépens de l'acide sulfureux, de doser le sel cuivrique présent primitivement dans la liqueur.

Mais on conçoit qu'il doit être possible d'employer un réducteur autre que l'acide sulfureux, tel que l'acide iodhydrique. C'est sous cet aspect qu'on peut envisager la méthode de Bruhns et Schoorl-Kolthoff.

Comme nous l'avons vu, dans cette méthode on fait agir sur le sel cuivrique, en milieu suffisamment acide, un mélange de sulfocyanure et d'iodure alcalins. En théorie, dans cette méthode, l'acide iodhydrique n'a plus qu'un seul rôle : réduire le sel cuivrique en sel cuivreux (d'où libération d'iode), le rôle insolubilisant étant laissé exclusivement au sulfocyanure.

En fait, FLEURY et BOUTOT (5 et 14) ont montré que, contrairement à la théorie, le précipité obtenu n'était pas constitué exclusivement par du sulfocyanure cuivreux, mais contenait constamment, en proportions variables, de l'iodure cuivreux ; autrement dit, les deux

réactions de Haen et de Bruhns se produisent ; mais, de toute évidence, cela ne peut avoir d'influence sur la quantité d'iode libéré et, par conséquent sur l'exactitude du dosage ; dans un cas comme dans l'autre, l'acide iodhydrique intervient seul comme réducteur.

III. — *Méthode de Zecchini-Incze (sulfocyanure et hyposulfite)*. — Mais l'expérience montre que, dans la réaction avec le sulfocyanure, le rôle de réducteur peut être rempli également par un autre corps qui est l'hyposulfite de soude. Autrement dit, si l'on fait agir sur un sel cuivrique un mélange de sulfocyanure alcalin et d'hyposulfite de soude, le sel cuivrique est réduit quantitativement, ainsi que nous l'avons montré, à l'état cuivreux par l'hyposulfite de soude qui passe alors à l'état de tétrathionate tandis que le sel cuivreux est insolubilisé à l'état de sulfocyanure cuivreux. Tel est le principe de la méthode Zecchini-Incze. On voit donc que l'hyposulfite de soude joue ici exactement le même rôle que l'acide iodhydrique dans le procédé Bruhns ou l'acide sulfureux dans le procédé gravimétrique.

Conclusion. — Les diverses méthodes que nous venons de rappeler, peuvent être considérées, en dernière analyse, comme toutes basées sur le même principe :

Transformation complète du sel de cuivre de l'état cuivrique à l'état cuivreux, obtenue, d'une part, grâce à l'action d'un réducteur (acide sulfureux, acide iodhydrique, hyposulfite de soude) et, d'autre part, grâce à la formation de sel cuivreux sous forme insoluble (iodure cuivreux, sulfocyanure cuivreux).

DEUXIÈME PARTIE

Etude des différentes méthodes de dosage différentiel des sucres réducteurs, au moyen de l'acétate de cuivre.

PRELIMINAIRES

Le dosage séparatif des mono et des di-saccharides, en particulier du glucose et du lactose, en présence dans une même solution (urine de femme enceinte, par exemple), a été l'objet de nombreux travaux.

Les auteurs ont, tour à tour, proposé des méthodes particulières, que l'on peut diviser en trois grandes catégories :

Méthodes biologiques,

Méthodes physiques,

Méthodes chimiques.

Les méthodes biologiques effectuent le dosage après destruction d'un des deux corps par un agent biologique : ferment ou bactérie. C'est ainsi que MARGAILLAN (27)

sépare le saccharose du lactose, à l'aide du ferment bulgare. A. P. MATHEWS (28) utilise la levure de Fleischman, qui fait fermenter le glucose et détruit son pouvoir réducteur, sans toucher au lactose. CASTELLANI et TAYLOR (8) utilisent également l'action fermentative d'une bactérie. THALHIMER et MARGARET C. PERRY (37) déterminent le pouvoir réducteur avant et après l'action du *B. Paratyphosus* B., qui détruit seulement le glucose. Toutes ces méthodes ont l'inconvénient d'être plus ou moins longues et assez délicates.

Les méthodes physiques, à l'aide du polarimètre, sont relativement peu sensibles, demandent de nombreux calculs et ne sont pas applicables à tous les cas ; le liquide à examiner peut, en effet, contenir des substances gênant le pouvoir rotatoire des sucres. BROCARD (6) est obligé, après l'emploi du polarimètre, de recourir également à la liqueur de Fehling.

Parmi les méthodes chimiques, l'une des plus anciennes consiste, comme le fait PORCHER (31), dans la formation, au moyen de phényl-hydrazine, d'osazones, que l'on différencie par leur point de fusion, leur solubilité dans divers liquides, et également par leur aspect microscopique. Mais ce procédé permet plutôt une détermination qualitative qu'une analyse quantitative.

D'autres méthodes, celle de FELLEBERG (13) en particulier, sont basées sur la plus ou moins grande inversion des différents sucres et leur décomposition par la soude. HILDT (22) effectue le dosage au moyen de la liqueur de Fehling, avant et après hydrolyse complète du lactose.

On trouve, enfin, les méthodes basées sur l'emploi de l'acétate de cuivre, qui, en milieu acétique, n'est pas réduit par le lactose, mais est réduit par le glucose. Un premier dosage, en milieu alcalin, avec la liqueur de

Fehling, permet de calculer la totalité des sucres réducteurs ; un deuxième dosage, en milieu acide, avec l'acétate de cuivre, donne la quantité de glucose et, par différence entre les deux dosages, la quantité de lactose.

Nous nous occuperons spécialement de ces méthodes.

CHAPITRE PREMIER

METHODE DE BARFOED

En 1881, BARFOED, cherchant un moyen de distinguer le glucose (sucre de raisin) d'avec le sucre de canne, le lactose et la dextrine, indique d'employer l'acétate de cuivre, en solution acétique. Voici d'ailleurs ce qu'il dit (2) : « La dextrine (ou le sucre de canne) à la température ordinaire ne donne aucune réduction avec une solution d'acétate de cuivre, et ne donne, également, avec une solution de ce même sel contenant une petite quantité d'acide acétique libre, aucun précipité d'oxydure de cuivre, ni après un chauffage de quelques instants, ni au bout de quelque temps ». Le sucre de raisin, dans les mêmes conditions, donne au contraire un précipité d'oxydure de cuivre. Le lactose agit comme la dextrine ; cependant Barfoed formule cette remarque qu'il n'y a pas de réduction : « à la condition d'opérer sur une solution pas trop concentrée. »

Comme réactif, Barfoed indique le suivant : « On dissout dans 15 parties d'eau, 1 partie d'acétate de cuivre cristallisé ; à 200 centimètres cubes de cette solution, on ajoute 5 centimètres cubes d'acide acétique à 38 0/0 ou une quantité équivalente d'acide d'une autre con-

« centration. Préparée de cette façon, la solution contient environ 1 0/0 d'acide acétique libre ».

Barfoed donne ainsi un moyen de distinguer le glucose du lactose ; malheureusement le réactif n'est pas spécifique, puisqu'il réduit avec une solution assez concentrée de lactose, et d'autre part Barfoed se borne à une recherche qualitative et non point quantitative.

CHAPITRE II

METHODE DE LE GRAND

En 1921, LE GRAND (24) reprend la technique de Barfoed, et l'applique à la séparation et au dosage des mono et des di-saccharides. Pour cela il emploie le procédé suivant : il calcule, d'abord au moyen de la liqueur de Fehling, la somme des monoses et des bioses réducteurs ; il dose ensuite, par la liqueur de Barfoed, les monoses seulement ; par différence entre les deux dosages, il obtient la quantité de bioses contenus dans la prise d'essai.

Voici, d'ailleurs, son procédé tel qu'il l'indique :

« 1° Dans une fiole conique de 150 cm³ environ de
« capacité, j'introduis 5 cm³ de solution sucrée (contenant au plus 0 gr. 100 de sucres réducteurs) et 15 cm³
« de liqueur de Barfoed.

« 2° Je chauffe jusqu'à l'ébullition, que je maintiens
« exactement 3 minutes.

« 3° Je filtre le liquide, sans le laisser refroidir, sur
« un filtre plat ordinaire, en évitant autant que possible
« d'entraîner l'oxydule de cuivre.

« 4° Suivant les indications de M. Gabriel Bertrand, je
« dissous l'oxydule de cuivre dans une solution de sul-

« fate ferrique. Je fais passer tout le liquide sur le filtre,
« pour dissoudre l'oxydule qui pourrait s'y trouver. Le
« filtrat est recueilli.

« 5° Je dose, dans le filtrat, la quantité de sulfate fer-
« rique transformé en sulfate ferreux par l'oxydule de
« cuivre, à l'aide de la solution titrée de permanganate
« de potasse (1 cm³ de permanganate correspondant à
« 6 mgr. de cuivre .

« Une table des poids de cuivre obtenus par des quan-
« tités déterminées de sucre, me permet ensuite de cal-
« culer le poids de sucre contenu dans la liqueur à ana-
« lyser ».

LE GRAND (24) formule ensuite quelques remarques :

1° Ne pas chauffer trop longtemps pour éviter l'éva-
poration de tout l'acide acétique, et par suite, précipi-
tation de sels basiques.

2° Opérer dans un milieu contenant moins de 1 0/00
de sels alcalins ou alcalino-terreux.

Après divers essais, Le Grand constate que c'est avec
15 cm³ de réactif de Barfoed et 5 cm³ de liqueur sucrée
qu'il obtient les meilleurs résultats.

Nous avons alors fait quelques essais sur la réduction
par le glucose et par le lactose, en employant la technique
indiquée par Le Grand ; cependant nous avons employé
la méthode de dosage que nous avons décrite précédem-
ment, méthode qui supprime l'inconvénient de la fil-
tration due à la méthode de Bertrand.

Nous avons donc pris 15 cm³ de réactif de Barfoed, et
5 cm³ de liqueur sucrée contenant 0 gr. 02 de glucose ;
nous avons versé le tout dans une fiole de Pelet graduée
à 200 cm³. Nous avons placé cette dernière sur une
flamme, et comme le fait Le Grand, nous avons main-

tenu l'ébullition pendant 3 minutes. Après ce temps, nous avons plongé le vase dans l'eau froide quelques instants, et nous avons complété à 200 cm³ avec de l'eau distillée ; nous avons prélevé 50 cm³ et opéré le dosage sur cette portion. Cette opération est rendue nécessaire par suite de la forte teneur en cuivre de notre prise d'essai : un dosage direct nécessiterait en effet des quantités considérables d'hyposulfite de soude N/10. Pour obtenir le résultat total, il suffit de multiplier par 4 le résultat obtenu. Nous avons bien essayé d'éviter cette opération en opérant avec de l'hyposulfite de soude plus concentré : N/2,5 par exemple ; mais les résultats n'ont pas été satisfaisants ; le terme de la réaction n'apparaissait pas nettement, il se produisait rapidement une décoloration de la liqueur ; nous avons donc continué à employer l'hyposulfite de soude N/10.

D'autre part, nous trouvant dans un milieu déjà acide, nous avons abaissé à 5 cm³ la quantité d'acide chlorhydrique à 1/2 nécessaire pour effectuer la réaction.

Le dosage devient donc le suivant :

Aux 50 cm³ de liqueur prélevés précédemment, ajouter 5 cm³ d'acide chlorhydrique à 1/2, agiter très rapidement, et verser immédiatement : 20 cm³ d'hyposulfite de soude N/10 exactement mesurés, et 10 cm³ de sulfo-cyanure de potassium à 20 0/0, préparés préalablement dans un vase d'Erlenmeyer ; continuer ensuite le dosage comme nous l'avons exposé dans la première partie.

Avec 0 gr. 02 de glucose, nous obtenons 13 cm³,40 de cuivre N/20 passés à l'état cuivreux, ce qui représente 42 mgr. 61 de Cu ou 47 mgr. 97 de Cu²O.

Nous avons alors fait des essais, dans les mêmes conditions, avec des doses variables de lactose ; nous obtenons les résultats suivants :

LACTOSE (en poids)	—	CUIVRE REDUIT (en cm ³ Cu N/20)	—
0,05		0,80	
0,10		1,60	
0,20		2,80	
0,40		6,00	

Nous voyons donc que, déjà avec 0 gr. 05 de lactose, on obtient une réduction ; il semble donc assez difficile d'utiliser, dans ces conditions, le réactif de Barfoed, pour doser, d'une façon sensible et précise, le glucose en présence de lactose, même en opérant, comme l'indique Le Grand, sur une prise d'essai contenant au plus 0 gr. 100 de sucres réducteurs.

D'autre part Le Grand constate que, si le liquide à examiner contient une concentration de sels alcalins ou alcalino-terreux supérieure à 1 0/00, il se forme des précipités basiques gênant la réaction.

Comme il opérait sur le lait de vache où la concentration en sels, en particulier de chlorure de sodium, est supérieure à 3 0/00, il était obligé de diluer le liquide à examiner jusqu'à obtention d'une concentration maxima de 1 0/00, en sels alcalins ou alcalino-terreux.

De notre côté, nous avons fait quelques essais en ajoutant au réactif des quantités variables de chlorure de sodium ou de sulfate de soude et nous avons constaté également la formation de précipités basiques, lorsque nous opérions dans les mêmes conditions que Le Grand.

Conclusion. — En résumé, la méthode de Le Grand offre certains inconvénients : réduction avec le lactose

dès que celui-ci dépasse 0 gr. 05, et formation de précipités basiques en présence de sels alcalins ou alcalino-terreux.

Nous avons alors examiné un autre réactif, toujours à base d'acétate de cuivre : le réactif de Roaf.

CHAPITRE III

METHODE DE ROAF

Roaf, en 1920 (35), avait déjà étudié le réactif de Barfoed. Il démontre tout d'abord, que la réduction du sel de cuivre dépend de la concentration en ions hydroxyle. D'autre part, en réduisant l'acidité, il pense augmenter la facilité de réduction par le glucose, sans augmenter la sensibilité pour la réduction par le maltose et le lactose. Pour diminuer cette acidité, il essaye l'addition au réactif de Barfoed de divers corps, en particulier le butyrate de cuivre ; mais c'est par l'addition de l'acétate de soude qu'il obtint les meilleurs résultats.

Il fit, d'abord, une solution d'acétate de cuivre à 10 0/0, qu'il divisa en 4 parts de 100 cm³ ; dans chacune il ajouta respectivement, 0 cm³, 0 cm³, 2, 0 cm³, 5 et 1 cm³ d'acide acétique. Divisant chacune de ces solutions en 4 parts de 10 cm³, il ajouta respectivement et pour chaque solution différente :

5 cm³ d'acétate de soude à 16,7 0/0

3 cm³ d'acétate de soude à 16,7 0/0

1 cm³ d'acétate de soude à 16,7 0/0

0 cm³ d'acétate de soude à 16,7 0/0

Dans chaque essai, il complète à 15 cm³ avec de l'eau distillée ; il obtient ainsi 16 liqueurs différentes, dont il prend 5 cm³ et à chacune desquelles il ajoute 5 cm³ de glucose à 1 0/0.

Il porte ensuite à l'ébullition. Dans ces conditions, l'ionisation de l'acide acétique est diminuée et le réactif est réduit par le glucose, en portant seulement le mélange à l'ébullition ; tandis que le lactose et le maltose ne montrent pas de réduction avant 5 minutes d'ébullition ; au bout de ce temps, il se forme un précipité noir dans toute la liqueur.

Avec les liqueurs contenant peu d'acide acétique, la réduction par le glucose est plus rapide, le précipité d'oxydure apparaît immédiatement ; tandis qu'avec celles provenant de la solution d'acétate de cuivre contenant 1 0/0 d'acide acétique le précipité commence à apparaître seulement après 5 minutes et devient plus abondant après 10 minutes. Roaf se borne, d'ailleurs, à indiquer par des signes +, la plus ou moins grande quantité d'oxydure précipité.

Comme résultat de ses expériences, Roaf propose le réactif suivant, qui lui a donné les résultats les plus satisfaisants :

Acétate de soude	50 gr.
Acétate de cuivre	50 gr.
Acide acétique	5 cm ³ .
Eau distillée q. s.	p ^r . 1000 cm ³ .

Avec ce réactif, Roaf obtient une réduction avec 0,1 partie de glucose, en portant seulement à l'ébullition, tandis que, dans les mêmes conditions, 1 partie de lactose et 1 partie de maltose ne donnent aucune réduction.

Comme on le voit, Roaf apporte une modification

importante au réactif de Barfoed : l'addition d'acétate de soude ; cependant ses expériences donnent un résultat seulement qualitatif et non point quantitatif. Nous avons alors voulu essayer de faire quelques dosages quantitatifs avec ce réactif.

Prenant 10 cm³ de réactif et 10 cm³ de liqueur sucrée, nous avons effectué le dosage après un chauffage de 10 minutes au bain-marie ; nous préférons, comme nous l'expliquons plus loin, l'action lente mais régulière du bain-marie à l'action rapide mais brutale du chauffage à feu nu.

Nous obtenons alors les résultats suivants :

SUCRES REDUCTEURS (en poids)	CUIVRE REDUIT (en cm ³ Cu N/20)
—	—
0 gr. 02 glucose	13,70
0 gr. 10 lactose	2,00

Nous trouvons donc une réduction avec 0 gr. 10 de lactose. Faisant un nouvel essai avec 20 cm³ de réactif et 10 cm³ de liqueur sucrée, nous obtenons :

SUCRES REDUCTEURS (en poids)	CUIVRE REDUIT (en cm ³ Cu N/20)
—	—
0 gr. 02 glucose	11,60
0 gr. 10 lactose	2,40

Nous obtenons donc également une réduction sensible avec 0 gr. 10 de lactose : il n'est donc guère possible, non plus, d'utiliser ce réactif pour doser le glucose en présence de lactose.

Nous avons, alors, voulu essayer si la présence de sels alcalins ou alcalino-terreux entraînait la formation de précipités basiques comme avec le réactif de Barfoed :

un essai avec 0 gr., 05 de chlorure de sodium nous a donné un abondant précipité basique.

Conclusion. — Nous rencontrons donc les mêmes inconvénients qu'avec le réactif de Barfoed : réduction par le lactose et formation de précipités basiques, en présence de sels alcalins ou alcalino-terreux.

Notre but étant de trouver un réactif ne réduisant pas avec 0 gr., 10 de lactose, tout en réduisant facilement par le glucose et permettant par suite le dosage du glucose, en présence de lactose, dans un liquide contenant au plus 0 gr., 100 de sucres réducteurs, nous avons cherché à constituer un nouveau réactif réunissant les conditions désirées.

TROISIEME PARTIE

Etude sur un réactif à base d'acétate de cuivre.

CHAPITRE PREMIER

ESSAIS PRELIMINAIRES

Devant les inconvénients des méthodes précédemment exposées, nous avons essayé de constituer diverses liqueurs avec lesquelles il nous fût possible de faire varier la réaction d'une façon graduelle, du milieu alcalin au milieu acide.

Des essais avec le sulfate de cuivre et l'ammoniaque ou la pyridine ne nous ayant pas donné de résultats satisfaisants, nous avons eu recours à la glycérine.

Avec la formule suivante : sulfate de cuivre 20 gr., glycérine 250 cm³, potasse 20 gr., eau q. s. p^r. 1000 cm³, nous avons obtenu une liqueur se réduisant d'elle-même, très rapidement, à la température ordinaire. Des essais avec deux glycérines de provenance différente ayant donné les mêmes résultats, nous avons abandonné la glycérine.

Nous inspirant d'une formule de R. FRÉSENIUS (16) nous avons constitué la liqueur suivante : sulfate de cuivre 40 gr., mannite 16 gr., soude 14 gr. 50, eau q. s. p^r 1000 cm³.

Cette liqueur réduisait le glucose, mais réduisait également le lactose dans de fortes proportions ; nous avons alors essayé de faire varier la soude et la mannite.

Prenant 10 cm³ de liqueur A (formule Bertrand, nous avons cherché la quantité minima de soude N et de mannite nécessaire pour dissoudre l'hydroxyde de cuivre et obtenir une liqueur limpide ; nous trouvons 6 cm³ de soude N et 1 cm³, 6 de mannite à 10 0/0. Nous avons alors fait l'essai suivant :

10 cm³ liqueur A Bertrand + 1 cm³, 6 mannite à 10 0/0 + 6 cm³ soude N et nous avons complété le volume à 40 cm³.

Après nous être assuré que notre liqueur était stable au bain-marie, nous avons essayé l'action du glucose et celle du lactose ; nous trouvons :

Sucres réducteurs. (en poids).	Cuivre réduit. (en cm ³ Cu N/10).
0 gr., 02 de glucose	10 cm ³ , 10
0 gr., 02 de lactose	6 cm ³ , 50

Nous obtenons donc avec cette liqueur une forte réduction par le lactose ; d'autre part, la liqueur surnageant le précipité d'oxydure était d'une couleur verte, probablement due à la présence de précipités basiques.

Nous avons alors abandonné la soude et essayé d'employer l'acétate de soude, mais quelle que soit la quantité employée, nous avons obtenu rapidement un précipité basique, en portant la liqueur au bain-marie. Nous avons alors eu recours à l'addition de mannite ; faisant varier

soit l'acétate, soit la mannite, soit les deux corps ensemble, nous obtenons les mêmes résultats. En ajoutant des doses variables d'acide acétique N, nous remarquons qu'à partir de 1 cm³ d'acide, par prise d'essai, nous n'obtenons aucun précipité au bain-marie, quelle que soit la quantité de mannite employée, à condition toutefois d'employer une quantité minima de 0 gr., 16; nous remarquons, d'autre part, qu'en augmentant la quantité d'acétate de soude, on peut diminuer celle de mannite, sans obtenir de précipité basique après un chauffage de 7 minutes au bain-marie. En employant 10 cm³ de liqueur A Bertrand, 2 gr. d'acétate de soude, 1 cm³ d'acide acétique N et en faisant varier la mannite, nous obtenons les résultats suivants, après avoir complété le volume à 40 cm³.

Temps de chauffage. (en minutes)	Mannite. (en poids)	Glucose. (en poids)	Lactose. (en poids)	Cuivre réduit. (en cm ³ Cu N/10)
15	0,05	0,02		8,70
»	»		0,02	0,70
»	0,10	0,02		8,10
»	»		0,02	0,65
»	0,15	0,02		7,30
»	»		0,02	0,50
»	0,20	0,02		6,30
»	»		0,02	0,20
30	0,10	0,02		10,00
»	»		0,02	0,70
»	0,20	0,02		9,70
»	»		0,02	0,30

De ces résultats il ressort clairement que la réduction croît avec le temps et que, d'autre part, la mannite semble

diminuer la réduction au fur et à mesure que la quantité ajoutée à la liqueur augmente.

La réduction par le glucose étant plus faible qu'avec la liqueur de Barfoed, nous avons cherché à augmenter la concentration en cuivre. Pour cela nous avons constitué une liqueur ayant une composition identique à celle du réactif de Barfoed, mais en partant du sulfate de cuivre et de l'acétate de sodium.

Nous obtenons alors, pour chaque prise d'essai de 20 cm³, volume indiqué par Le Grand : sulfate de cuivre : 1 gr., 21 ; acétate de soude : 1 gr., 32 ; acide acétique à 38 0/0 : 0 cm³, 36. Après une exposition de 7 minutes au bain-marie, nous obtenons un abondant précipité basique ; ayant remarqué, précédemment, que la mannite empêche la formation de ce précipité, nous en avons ajouté 0 gr., 10, 0 gr., 20, 0 gr., 30 sans obtenir de résultat. Avec 0 gr., 50 de mannite nous n'obtenons plus de précipité basique mais la réduction par 0 gr., 02 de glucose est de 4 cm³ 30 seulement ; réduction par conséquent, beaucoup plus faible qu'avec le réactif de Barfoed.

Le précipité constaté, en l'absence de mannite ou avec une petite quantité de mannite est dû à la formation de sulfate de soude, dont la présence dans le réactif de Barfoed, comme l'a remarqué Le Grand, occasionne un précipité basique. La mannite empêche donc la formation de précipité basique, d'ailleurs quelques essais avec le réactif de Barfoed et du chlorure de sodium ou du sulfate de sodium nous ont confirmé l'influence de la mannite.

Malheureusement, l'addition de mannite, comme nous l'avons vu précédemment, paraît gêner la réduction par le glucose. Pour vérifier cette hypothèse, nous avons

ajouté, à 15 cm³ de liqueur de Barfoed, 1 gr., 57 de sulfate de soude : quantité équivalente à celle qui se forme dans la liqueur à base de sulfate de cuivre et d'acétate de soude. Comme nous le prévoyions, un abondant précipité basique se forme, après quelques secondes au bain-marie. Nous avons alors ajouté 0 gr., 50 de mannite ; notre liqueur étant stable, nous avons effectué un dosage, après réduction par 0 gr., 02 de glucose ; nous obtenons 4 cm³, 20 de Cu N/20 réduit : résultat sensiblement égal au précédent.

Attribuant à la mannite cette diminution de réduction, nous avons effectué les dosages suivants avec 15 cm³ de liqueur de Barfoed, 5 cm³ de liqueur sucrée contenant 0 gr., 02 de glucose et des doses variables de mannite.

Mannite. (en poids)	Cuivre réduit (en cm ³ Cu N/20)
—	—
0,50	4,40
0,30	7,20
0,20	9,20
0,16	11,60
0,10	13,20
0	13,40

La mannite diminue donc très sensiblement la réduction par le glucose ; comme, d'autre part, nous sommes obligés d'ajouter ce corps, pour éviter la formation de précipité basique dans une liqueur à base de sulfate de cuivre et d'acétate de soude, nous avons été obligé d'abandonner cette voie.

Des essais faits en remplaçant la mannite ou en ajoutant à la liqueur des doses variables de tartrate de soude et de potasse ou de citrate de soude n'ont pas donné de

meilleurs résultats : tous ces corps semblent jouer un rôle comparable à celui de la mannite.

D'autres essais avec le borate de soude, le carbonate de soude, le phosphate de soude ou le tartrate de soude ne nous ont donné également aucuns résultats satisfaisants.

Nous sommes alors revenus à l'étude de liqueurs à base d'acétate de cuivre.

CHAPITRE II

INFLUENCE DES DIFFERENTS CONSTITUANTS DE LA LIQUEUR DE BARFØED

Pour connaître le rôle exact et l'importance de chaque élément de la liqueur de Barfœd, il est nécessaire d'examiner chacun d'eux séparément : en présence du glucose d'abord, puis en présence de lactose ; nous avons donc étudié successivement l'influence du chauffage et du temps, de la dilution, de la concentration en cuivre et de la concentration en acide : nous avons étudié, également, si ce réactif présentait des phénomènes d'auto-réduction.

A. — APPLICATION AU GLUCOSE

§ I. — ETUDE DU CHAUFFAGE ET DU TEMPS

Le Grand, dans l'exposé de sa méthode, conseille de chauffer à feu nu et de laisser bouillir 3 minutes exactement. Le chauffage à feu nu demande une grande attention ; il est, en effet, quelquefois difficile de saisir exactement le début de l'ébullition et, d'autre part, si l'on dépasse légèrement les 3 minutes d'ébullition prévues, la quantité de cuivre réduit se trouve modifiée. La réduction de la liqueur de Barfœd n'étant pas, en effet, complète

après 3 minutes d'ébullition, il importe d'avoir un temps de chauffage toujours exactement le même ; c'est pourquoi nous avons préféré, comme le recommande CH. O. GUILLAUMIN (20), substituer au chauffage à feu nu le chauffage plus lent et plus régulier du bain-marie.

Conservant les mêmes quantités de réactif et de liqueur sucrée : 15 cm³ de liqueur de Barfoed et 5 cm³ de solution sucrée, contenant 0 gr., 02 de glucose, indiquées par Le Grand, nous avons fait les essais suivants :

Chauffage. (en minutes)	Cuivre réduit. (en cm ³ Cu N/20)
3 à feu nu.	13,20
7 au bain-marie.	13,00
10 au bain-marie	14,20
15 au bain-marie	15,80

Nous constatons donc que la réduction croît avec le temps mais, bien qu'après un chauffage de 10 minutes au bain-marie elle soit encore incomplète, nous serons obligé comme nous le verrons plus loin de conserver ce temps pour effectuer nos dosages.

Le Grand signale la formation d'un précipité basique, lorsqu'on prolonge trop longtemps l'ébullition ; ce précipité serait dû à l'évaporation de l'acide acétique ; le chauffage au bain-marie réduit cet inconvénient ; d'autre part, pour plus de sûreté, pendant le chauffage, nous fermons la fiole par un bouchon traversé d'un long tube : de cette façon, l'évaporation est réduite au minimum.

§ II. — ETUDE DE L'AUTO-REDUCTION

De nombreux auteurs ayant signalé, comme nous le verrons plus loin, que la liqueur de Fehling présentait

des phénomènes d'auto-réduction assez intenses, nous avons voulu examiner si la liqueur de Barfoed se trouvait dans le même cas.

Après un chauffage de 10, 15, 20 et 30 minutes, au bain-marie, nous n'obtenons aucune différence sensible dans le dosage du cuivre total ; un essai, après un chauffage de 160 minutes au bain-marie, nous ayant donné un précipité basique nous n'en avons pas tenu compte.

On peut donc conclure que la liqueur de Barfoed ne présente pas de phénomènes d'auto-réduction ce qui nous permet, si besoin en est, de pousser plus loin le temps de chauffage.

§ III. — INFLUENCE DE LA DILUTION

Nous avons voulu savoir si l'addition d'eau à une prise d'essai avait une répercussion sensible sur le dosage ; ayant ajouté 20 cm³ d'eau à une prise d'essai, nous obtenons, après 10 minutes de chauffage au bain-marie, en présence de 0 gr., 02 de glucose, 7 cm³ de cuivre réduit (en cm³ Cu N/20) au lieu de 14 cm³, 20 trouvés précédemment.

Plusieurs essais nous ayant donné des résultats identiques, nous en concluons que, pour avoir des résultats exacts, il importe d'amener toujours au même volume la prise d'essai à examiner.

Continuant nos essais sur la dilution, nous avons dilué la liqueur de Barfoed elle-même au 1/4 et au 1/2 et nous avons pris 15 cm³ de chacun des réactifs ainsi obtenus, auxquels nous ajoutions 5 cm³ de liqueur sucrée, contenant 0 gr. 02 de glucose, nous obtenons :

Cuivre réduit.
(en cm³ Cu N/20)

Barfoed pur	14,20
Barfoed au 1/2	8,20
Barfoed au 1/4	4,35

Avec la seconde liqueur, il se produit un léger précipité brun d'oxyde de cuivre déshydraté.

La réduction diminue donc avec la dilution de la liqueur ; mais, dans ces expériences, nous avons fait varier deux facteurs, qui peuvent avoir chacun leur importance : concentration en cuivre et concentration en acide ; nous avons donc fait de nouveaux essais en maintenant l'un des deux facteurs constant et en faisant varier l'autre.

§ IV. — ETUDE DE LA CONCENTRATION EN CUIVRE

Pour étudier l'influence de la concentration en cuivre, nous avons employé l'acétate de cuivre au 1/15 qui nous avait servi à préparer le réactif de Barfoed et nous avons préparé les liqueurs suivantes :

Acétate de cuivre à 1/15. (en cm ³)	Eau distillée (en cm ³)	
50	150	liqueur au 1/4
66,7	133,3	liqueur au 1/3
100	100	liqueur au 1/2
133,3	66,7	liqueur aux 2/3
150	50	liqueur aux 3/4
160	40	liqueur aux 4/5

A chaque liqueur nous avons ajouté 5 cm³ d'acide acétique à 38 0/0.

La concentration en acide est, par conséquent, la même dans toutes ces liqueurs. Nous avons alors effectué quelques dosages, après réduction par 0 gr., 02 de glucose : tous ont été effectués après un chauffage de 10 minutes au bain-marie, quelques-uns après 3 minutes d'ébullition.

	CUIVRE REDUIT (en cm ³ Cu N/20)	
	10 minutes au bain-marie	3 minutes d'ébullition
Liqueur de Barfoed au 1/4	0,10	0,50
Liqueur de Barfoed au 1/3	0,75	
Liqueur de Barfoed au 1/2	4,00	5,00
Liqueur de Barfoed aux 2/3	8,60	
Liqueur de Barfoed aux 3/4	10,00	
Liqueur de Barfoed aux 4/5	12,40	
Liqueur de Barfoed pure	14,20	13,20

Nous voyons donc que la concentration en cuivre a une influence considérable.

Si nous comparons les chiffres obtenus, après réduction, avec les liqueurs au 1/4 et au 1/2, avec ceux obtenus avec les liqueurs de Barfoed diluées au 1/4 et au 1/2, mais n'ayant pas conservé la même concentration en acide nous trouvons (en cm³ Cu N/20 :

	Même concentration en acide.	Liqueurs diluées.
Liqueur au 1/2	4,00	8,20
Liqueur au 1/4	0,10	4,40

La concentration en cuivre étant sensiblement la

même dans les deux liqueurs au 1/2, d'une part, et les liqueurs au 1/4 d'autre part, et la concentration en acide ayant seul varié, il s'ensuit que la concentration en acide doit également avoir une influence considérable, puisque nous obtenons des écarts très sensibles.

§ V. — ETUDE DE LA CONCENTRATION EN ACIDE

A 15 cm³ de solution d'acétate de cuivre au 1/15, nous avons ajouté des quantités variables d'acide acétique à 38 0/0, de façon à obtenir sensiblement : une liqueur de concentration en acide égale à celle de la liqueur de Barfoed ; une autre égale à la moitié et une troisième, enfin, égale au double ; dans tous les cas nous complétons le volume à 20 cm³ après avoir ajouté la solution sucrée contenant 0 gr., 02 de glucose. Après un chauffage de 10 minutes au bain-marie, nous obtenons les résultats suivants :

Acide acétique à 38 0/0. (en cm ³) pour 15 cm ³ Acétate Cu au 1/15	Cuivre réduit. (en cm ³ Cu N/20).
—	—
0,75	9,60
0,375	12,80
0,19	13,60

La quantité d'acide acétique à 38 0/0 correspondant à la liqueur de Barfoed est de 0 cm³, 375 ; nos résultats étant uniquement comparatifs, nous ne tenons pas compte des écarts trouvés entre la réduction avec la liqueur de Barfoed et la liqueur de concentration en acide sensiblement égale.

Pour compléter nos résultats, nous avons fait des essais semblables avec la solution d'acétate de cuivre au 1/15, diluée au 1/4 ; nous obtenons après réduction par 0 gr., 02 de glucose :

Acide acétique à 38 0/0. (en cm ³)	Cuivre réduit. (en cm ³ Cu N/20).
0,75	0
0,375	0,05
0,19	0,90

L'influence de la concentration en acide est donc considérable également : plus on l'augmente, plus la réduction est diminuée.

Conclusion. — En résumé, il ressort des essais précédents sur la réduction de la liqueur de Barfoed par le glucose que :

a) le chauffage au bain-marie remplace avantageusement le chauffage à feu nu ; cependant, au bout de 10 minutes de chauffage au bain-marie, la réduction par le glucose n'est pas complète, pas plus d'ailleurs qu'après 3 minutes d'ébullition à feu nu ;

b) il n'y a aucun phénomène d'auto-réduction de la liqueur ;

c) la dilution a une grosse influence sur la réduction par suite de la variation des deux facteurs suivants ;

d) la réduction croît avec l'augmentation de la concentration en cuivre ;

e) la réduction diminue avec l'augmentation de la concentration en acide.

B. — APPLICATION AU LACTOSE

Nous avons refait les mêmes essais avec le lactose ; mais avant d'aborder cette étude, nous avons examiné si, placé dans les conditions où nous voulions l'employer, le lactose ne risquait pas de s'hydrolyser.

§ I. — ETUDE DE L'HYDROLYSE DU LACTOSE

Nous avons pris 0 gr., 40 de lactose ; nous avons ajouté 0 cm³, 375 d'acide acétique à 38 0/0 et nous avons complété le volume à 20 cm³ pour nous trouver dans les mêmes conditions que dans nos dosages précédents.

Après une demi-heure de chauffage au bain-marie, nous avons prélevé 5 cm³ que nous avons mis en contact 10 minutes au bain-marie avec 15 cm³ d'acétate de cuivre au 1/15 et 0 cm³, 65 d'acide acétique à 38 0/0, pour obtenir une concentration en acide de 0 cm³, 75 ; concentration à laquelle, comme nous le verrons plus loin, 0 gr., 10 de lactose ne sont pas réduits ; le dosage nous montre qu'il n'y a aucune réduction.

Un deuxième dosage, avec 5 nouveaux centimètres cubes, prélevés après avoir remis encore une demi-heure au bain-marie la liqueur précédente, nous a donné les mêmes résultats.

Nous pouvons donc dire que, dans les conditions où nous opérons, il n'y a aucune hydrolyse appréciable du lactose, même après une heure de chauffage au bain-marie ; nous pourrions donc sans inconvénients augmenter le temps de chauffage.

§ I. — INFLUENCE DU TEMPS DE CHAUFFAGE

Prenant une très petite quantité de lactose donnant une très légère réduction après un chauffage de 10 minutes au bain-marie, nous avons prolongé le chauffage jusqu'à 20 et 40 minutes, nous obtenons alors, avec 0 gr., 03 de lactose :

Temps de chauffage. (en minutes).	Cuivre réduit. (en cm ³ Cu N/20).
—	—
10	0,20
20	1,20
40	2,40

Nous voyons donc qu'en augmentant le temps de chauffage, on augmente la réduction par le lactose.

Un autre essai, avec 0 gr., 40 de lactose et une liqueur d'une concentration en acide moitié de celle de la liqueur de Barfoed nous donne des résultats identiques :

Temps de chauffage. (en minutes).	Cuivre réduit. (en cm ³ Cu N/20).
—	—
10	10,40
20	17,60
40	28,80

L'influence du temps de chauffage est donc considérable : la réduction par le lactose croît, comme pour le glucose, avec l'augmentation de temps de chauffage.

§ III. — INFLUENCE DE LA CONCENTRATION EN CUIVRE

Reprenant la liqueur de Barfoed diluée au 1/4, mais ayant conservé la même concentration en acide que

la liqueur de Barfoed, nous avons fait les mêmes essais que pour le glucose en employant 0 gr., 05 et 0 gr., 10 de lactose ; après 10 minutes de chauffage au bain-marie nous n'obtenons aucune réduction, tandis qu'avec la liqueur de Barfoed nous obtenions (en cm^3 Cu N/20) 0 cm^3 , 80 de cuivre réduit pour 0 gr., 05 de lactose et 1 cm^3 , 60 pour 0 gr., 10 de lactose.

En diminuant la concentration en cuivre, on diminue donc la réduction par le lactose.

§ IV. — INFLUENCE DE LA CONCENTRATION EN ACIDE

Comme nous l'avions fait pour le glucose, nous avons étudié l'influence de la concentration en acide en employant l'acétate de cuivre au 1/15 et l'acide acétique à 38 0/0.

Nous obtenons alors les résultats suivants :

15 cm^3 acétate de cuivre au 1/15 + acide acétique à 38 0/0. (cm^3).	Lactose. (en poids).	Cuivre réduit. (en cm^3 Cu N/20).
0,19	0,05	1,60
»	0,10	2,80
»	0,20	6
»	0,40	10,40
0,75	0,05	0
»	0,10	0
»	0,20	0,8
»	0,40	4

L'augmentation de la concentration en acide diminue donc la réduction par le lactose ; avec 0 cm^3 , 75 d'acide

acétique à 38 0/0, nous n'obtenons donc aucune réduction par 0 gr., 10 de lactose ; nous avons alors essayé de diminuer la quantité d'acide :

15 cm ³ acétate de cuivre au 1/15 + acide acétique à 38 0/0. (cm ³). —	Lactose. (en poids). —	Cuivre réduit. (en cm ³ Cu N/20). —
0,50	0,10	0,80
0,625	»	0,10 à 0,20

Avec 0 cm³, 625 d'acide acétique à 38 0/0, par prise d'essai, la réduction par 0 gr., 10 de lactose est donc déjà à peine sensible ; il semble donc que cette quantité d'acide soit la quantité minima nécessaire pour n'obtenir aucune réduction par 0 gr., 10 de lactose.

Conclusion. — La réduction par le lactose est donc soumise aux mêmes influences que pour le glucose ; augmente avec une concentration en cuivre plus forte et diminue, avec une concentration en acide plus élevée ; dans ces conditions il semble donc difficile d'obtenir une liqueur très sensible au glucose et ne réduisant pas par le lactose ; nous avons étudié, plus loin, s'il était possible de concilier ces deux intérêts diamétralement opposés

Mais, au préalable, il nous a fallu étudier l'influence, sur la liqueur de Barfoed, de l'acétate de soude préconisé par Roaf.

CHAPITRE III

INFLUENCE DE L'ACÉTATE DE SOUDE SUR LA LIQUEUR DE BARFØED

Nous avons refait ici les mêmes essais que dans le chapitre II, mais en ajoutant de l'acétate de soude ; nous avons donc étudié à nouveau, en comparant avec les résultats obtenus précédemment, l'influence : du temps et du chauffage, de la dilution, de la concentration en cuivre et de la concentration en acide, d'abord sur le glucose, puis sur le lactose. Nous avons étudié ensuite l'influence de l'acétate de soude sur la présence des sels alcalins et alcalino-terreux dans le réactif de Barfœd.

A. — APPLICATION AU GLUCOSE

Reprenant la technique de Le Grand : 15 cm³ de liqueur de Barfœd et 5 cm³ de liqueur sucrée ; nous avons porté le mélange à l'ébullition, à feu nu, pendant 3 minutes, en présence respectivement de 0 gr., 50, 1 gr., 1 gr., 50 et 2 gr. d'acétate de soude.

Les résultats ont été les suivants après réduction par 0 gr., 02 de glucose :

Acétate de soude (en poids).	Cuivre réduit (en cm ³ Cu N/20).
0	13,20
0,50	15,20
1	16,00
1,50	16,00
2	16,00

Nous voyons donc que l'addition d'acétate de soude augmente la réduction de la liqueur par le glucose. D'ailleurs, la note suivante d'ALVARO REYNOSO (33), en 1855, faisait prévoir ce résultat :

« Avec l'acétate de cuivre on n'obtient jamais la précipitation de tout le cuivre quelle que soit la quantité de sucre et la durée de l'ébullition. Pour obtenir la réduction complète de l'acétate de cuivre, il faut ajouter un grand excès d'acétate de soude ou de potasse ».

Nous avons alors refait les mêmes essais qu'au chapitre précédent.

§ I. — INFLUENCE DU TEMPS ET DU CHAUFFAGE

Ajoutant 1 gr., 50 d'acétate de soude à chaque prise d'essai, nous les avons mises au bain-marie, pendant des temps variables : 7, 10 et 15 minutes. En comparant avec les résultats obtenus précédemment, sans acétate, nous trouvons, en présence de 0 gr., 02 de glucose :

Temps de chauffage au bain-marie (en minutes).	Cuivre réduit (en cm ³ Cu N/20).	
	sans acétate	Avec 1 gr. 50 d'acétate
7	12,80	14,80
10	14,00	16,00
15	16,00	16,00

L'addition d'acétate de soude augmente donc la vitesse de réduction puisqu'au bout de 10 minutes au bain-marie nous trouvons les mêmes résultats, avec 1 gr., 50 d'acétate, qu'au bout de 15 minutes sans acétate.

Nous maintiendrons donc un chauffage de 10 minutes au bain-marie.

§ II. — ETUDE DE L'AUTO-REDUCTION

La liqueur de Barfoed, comme nous l'avons montré plus haut, ne présente aucun phénomène d'auto-réduction ; nous avons voulu vérifier si l'addition d'acétate de soude ne troublait pas la stabilité de la liqueur.

Quelques essais avec 1 gr., 50 et 2 gr. d'acétate de soude, ajoutés à 15 cm³ de liqueur de Barfoed, ne nous ont montré aucune réduction après 10, 15, 20 et 30 minutes de chauffage au bain-marie.

L'addition d'acétate de soude n'entraîne donc la formation d'aucun phénomène d'auto-réduction.

§ III. — INFLUENCE DE LA DILUTION

Reprenant la liqueur de Barfoed diluée au 1/4, nous avons fait quelques dosages, après réduction par 0 gr., 02 de glucose, en présence de 0 gr., 1 gr., et 2 gr. d'acétate de soude, nous obtenons :

Acétate de soude (en poids).	Cuivre réduit (en cm ³ Cu N/20).
—	—
0	4,30
1	9,10
2	9,10

Nous retrouvons donc les mêmes phénomènes que précédemment : l'acétate de soude augmente la vitesse de la réduction.

§ IV. — INFLUENCE DE LA CONCENTRATION EN CUIVRE

Pour étudier cette influence, nous avons tout d'abord repris la liqueur de Barfoed, diluée au 1/4, mais ayant même concentration en acide que la liqueur de Barfoed, qui nous avait servi pour les essais du chapitre II.

Après un chauffage de 10 minutes au bain-marie, en présence de 0 gr., 02 de glucose et de quantités variables d'acétate de soude, nous obtenons :

Acétate de soude (en poids).	Cuivre réduit (en cm ³ Cu N/20).
0	0,10
0,50	2,00
1	2,30
2	3

Ici encore l'acétate de soude manifeste son action, en facilitant la réduction. Nous avons alors fait des essais, avec les différentes liqueurs diluées employées précédemment, mais en ajoutant 2 gr. d'acétate de soude par prise d'essai. En comparant avec les résultats obtenus précédemment sans acétate, nous trouvons après réduction par 0 gr., 02 de glucose :

Liquueur de Barfoed	Cuivre réduit (en cm ³ Cu N/20)	
	sans	acétate de soude + gr. acétate de soude
au 1/4	0,10	3,00
au 1/3	0,75	6,20
au 1/2	4,00	12,00
aux 2/3	8,60	14,80
aux 3/4	10,00	15,60
pure	14,20	16,00

Par comparaison entre les différents résultats, on voit quel rôle considérable l'acétate de soude joue dans la réduction par le glucose : en augmentant la vitesse de réduction, l'acétate de soude semble, en quelque sorte, compenser le déficit en cuivre.

§ V. — INFLUENCE DE LA CONCENTRATION EN ACIDE

Nous avons fait quelques essais, avec l'acétate de cuivre au 1/15 et avec cette même liqueur diluée au 1/4, en ajoutant à ces liqueurs des quantités variables d'acide acétique à 38 0/0 et une quantité constante de 2 gr. d'acétate de soude. En comparant avec les résultats obtenus sans acétate de soude, nous trouvons, après réduction par 0 gr., 02 de glucose :

Acétate de cuivre au 1/15 (en cm ³)	Acide acétique à 38 0/0 (en cm ³)	Cuivre réduit (en cm ³ Cu N/20)	
		sans acétate de soude	+ 2 gr. acétate de soude
—	—	—	—
15	0,75	9,60	15,60
15	0,375	12,80	16,00
Acétate de cuivre au 1/15 dilué au 1/4			
15	0,75	0	0
»	0,375	0	2,90
»	0,19	0,90	6,50

Ici encore, on rencontre la même influence manifeste de l'acétate de soude : augmentation de la vitesse de la réduction.

Conclusion. — En résumé, l'addition d'acétate de

soude à la liqueur de Barfoed ne donne lieu à aucun phénomène d'auto-réduction et augmente la vitesse de la réduction de la liqueur par le glucose, donc atténue l'influence de la concentration en cuivre et celle de l'acide.

B. — APPLICATION AU LACTOSE.

Nous donnons ici les résultats obtenus, en ajoutant 2 gr. d'acétate de soude à chaque prise d'essai, comparativement avec les résultats obtenus sans acétate.

Lactose (en poids)	Cuivre réduit (en cm ³ Cu N/20)	
	sans acétate de soude	+ 2 gr. acétate de soude
0,05	0,80	0,80
0,10	1,60	1,60
0,20	2,80	4,80
0,40	6,00	9,20

L'acétate de soude agit donc pour le lactose comme pour le glucose ; cependant l'augmentation de vitesse de réduction ne se fait guère sentir qu'avec une quantité de lactose supérieure à 0 gr., 10.

§ I. — INFLUENCE DU TEMPS DE CHAUFFAGE

Si on étudie l'influence de l'acétate de soude sur la réduction de la liqueur de Barfoed par le lactose, lorsqu'on fait varier le temps de chauffage, on trouve, en opérant sur des quantités variables de lactose les résultats suivants :

Temps de chauffage au bain marie (en minutes)	Lactose (en poids)	Cuivre réduit (en cm ³ Cu N/20)	
		sans acétate de soude	+ 2 gr. acétate de soude
10	0,03	0,20	0,20
20	»	1,20	1,20
40	»	2,40	4,00
10	0,40	10,40	14,00
20	»	17,60	25,20
40	»	28,80	37,60

Les résultats sont donc identiques aux précédents : l'acétate de soude augmente la vitesse de la réduction ; cependant avec une faible quantité de lactose, cette augmentation ne se fait sentir qu'au bout d'un temps assez long.

§ II. — INFLUENCE DE LA CONCENTRATION EN CUIVRE

Quelques essais avec la liqueur de Barfoed diluée au 1/4 mais ayant la même concentration en acide que la liqueur de Barfoed pure, ne nous ont montré aucune réduction par 0 gr., 05 ou 0 gr., 10 de lactose, après un chauffage de 10 minutes au bain-marie, même en présence de 2 gr. d'acétate de soude.

Quelques essais avec la liqueur de Barfoed diluée au 1/2, mais ayant également même concentration en acide que la liqueur de Barfoed, nous ont montré la même influence de l'acétate de soude : augmentation de la vitesse de la réduction.

§ III. — INFLUENCE DE LA CONCENTRATION EN ACIDE

Pour étudier l'influence de la concentration en acide, nous avons fait des essais en prenant l'acétate de cuivre au 1/15 et en ajoutant des doses variables d'acide acétique à 38 0/0, en présence de 2 gr. d'acétate de soude. Après réduction par le lactose, nous obtenons, en comparant avec ce que nous avons obtenu sans acétate de soude, les résultats suivants :

Acide acétique à 38 0/0. (en cm ³)	Lactose (en poids)	Cuivre réduit (en cm ³ Cu N/20)	
		sans-acétate de soude	+ 2 gr. acétate de soude
0,19	0,05	1,60	2,00
»	0,10	2,80	4,40
»	0,20	6,00	9,60
»	0,40	10,40	14,00
0,75	0,05	0	0
»	0,10	0	0
»	0,20	0,80	1,60
»	0,40	4,00	5,20

La même influence de l'acétate de soude : augmentation de la vitesse de la réduction, se manifeste donc ici aussi ; cependant nous remarquons qu'avec 0 cm³, 75 d'acide acétique à 38 0/0, on n'obtient aucune réduction par 0 gr., 10 de lactose même en présence de 2 gr. d'acétate de soude. Ayant constaté précédemment qu'avec 0 cm³ 625 d'acide on n'obtenait qu'une réduction pour ainsi dire nulle par 0 gr., 10 de lactose, nous avons refait le même essai en présence de 2 gr. d'acétate de

soude ; le résultat a été le même tandis qu'avec 0 cm³, 50 d'acide acétique à 38 0/0 on obtenait une réduction plus forte, ainsi que le montre le tableau suivant :

Acide acétique à 38 0/0. (en cm ³)	Lactose (en poids)	Cuivre réduit (en cm ³ Cu N/20)	
		sans acétate de soude	+ 2 gr. acétate de soude
0,50	0,10	0,80	1,60
0,625	»	0,10	0,10
»	0,05	0	0

Conclusion. — En résumé, on peut dire que l'acétate de soude augmente la vitesse de réduction par le lactose comme par le glucose ; cependant cette augmentation, pour le lactose, ne se fait pas sentir au bout de 10 minutes de chauffage au bain-marie si on emploie de petites quantités de lactose ; d'autre part, en augmentant la concentration en acide, il semble possible de n'obtenir aucune réduction par 0 gr., 10 de lactose. Dans ce cas, d'ailleurs, la présence d'acétate de soude ne nécessite pas l'emploi d'une concentration en acide supérieure, pour obtenir le même résultat, et cependant elle augmente la vitesse de réduction par le glucose. Il y aurait donc intérêt à constituer une liqueur ayant une concentration en acide suffisante pour n'avoir aucune réduction par 0 gr., 10 de lactose ; c'est ce que nous avons essayé plus loin.

C. — ACTION DES SELS.

Ayant constaté, comme nous l'avons dit précédemment, la formation d'un précipité basique, avec le réactif de Barfœd, lorsqu'on opère sur un liquide ayant une con-

centration supérieure à 1 0/00 en sels alcalins ou alcalino-terreux, nous avons examiné si l'addition d'acétate de soude modifierait cette action.

Nous avons, pour cela, fait les essais suivants, avec le chlorure de sodium et le sulfate de soude, en soumettant chaque liqueur à 3 minutes d'ébullition à feu nu, d'une part, et à 10 minutes de chauffage au bain-marie, d'autre part.

Tous nos essais ont été effectués avec 15 cm³ de liqueur de Barfœd et nous avons complété le volume à 20 cm³.

Chlorure de sodium.	Acétate de soude.	Résultats
0 gr., 05	0	précipité basique.
»	1 gr.	pas de.
0 gr., 10	1 gr.	léger
»	2 gr.	pas de.
0 gr., 20	2 gr.	précipité basique.
Sulfate de sodium.		
0 gr., 05	0	précipité basique.
»	1 gr.	pas de.
0 gr., 10	1 gr.	léger
»	2 gr.	pas de.
0 gr., 20	2 gr.	précipité basique.

Le sulfate de sodium et le chlorure de sodium à la dose de 0 gr., 10 par prise d'essai, ne donnent donc aucun précipité basique, en présence de 2 gr. d'acétate de soude ajoutés à la liqueur. Un essai avec 0 gr., 10 de chlorure de sodium et 0 gr., 10 de sulfate de sodium, mis ensemble dans une même prise d'essai, ne nous a également donné aucun précipité basique, lorsqu'on ajoute 2 gr. d'acétate de sodium.

L'addition d'acétate de sodium empêche donc la for-

mation de précipités basiques, dus à la présence de sels alcalins, à la condition d'opérer sur un liquide dont la concentration en sel est de 2 0/0 au maximum : ce qui est un avantage considérable, puisqu'avec la liqueur de Barfoed, il ne fallait pas avoir une concentration en sels supérieure à 1 0/00.

Conclusion. — L'addition d'acétate de soude a donc pour effet :

- 1° de ne pas apporter de phénomènes d'auto-réduction ;
- 2° d'augmenter la vitesse de réduction par le glucose ;
- 3° de ne pas avoir d'influence sur de petites quantités de lactose, en milieu légèrement plus acide que la liqueur de Barfoed ;

- 4° d'empêcher la formation de précipités basiques, dus à la présence de sels alcalins ou alcalino-terreux.

D'après tous ces essais, nous avons essayé de constituer une liqueur.

CHAPITRE IV

CONSTITUTION D'UNE LIQUEUR

Nous basant sur toutes les expériences précédentes nous montrant l'influence de la concentration en cuivre et de la concentration en acide, nous avons essayé de constituer un réactif ayant la plus grande concentration possible en cuivre et, d'autre part, ayant une concentration en acide suffisante pour empêcher la réduction par 0 gr., 10 de lactose, tout en conservant une réduction très sensible par le glucose.

§ I. — ETABLISSEMENT DE LA LIQUEUR

En nous reportant aux expériences précédentes sur l'influence de la concentration en acide, nous voyons qu'avec 0 cm³, 625 d'acide acétique à 38 0/0, nous n'obtenons qu'une réduction négligeable par 0 gr., 10 de lactose, même en présence de 2 gr. d'acétate de soude. Nous avons adopté cette limite minima d'acide et nous avons calculé à quelle quantité d'acide acétique pur elle correspondait. Auparavant nous avons vérifié notre acide acétique et constaté qu'il n'absorbait pas d'iode, ce qui aurait indiqué la présence d'anhydride sulfureux, que l'on rencontre quelquefois.

Nous avons, tout d'abord, fait quelques essais en employant l'acétate de cuivre au 1/15 dont nous prenions, soit 10 cm³, soit 20 cm³ pour 10 cm³ de liqueur sucrée et auquel nous ajoutions, par prise d'essai, 2 gr. d'acétate de soude et la quantité d'acide acétique nécessaire pour obtenir la concentration indiquée précédemment.

Avec 20 cm³ de solution d'acétate de cuivre au 1/15 et 10 cm³ de liqueur sucrée, nous obtenions des résultats satisfaisants.

Au lieu d'ajouter l'acétate de soude en cristaux à chaque prise d'essai, nous avons essayé de faire une liqueur dans le genre de celle de Roaf, c'est-à-dire contenant l'acétate de soude et l'acétate de cuivre.

Nous avons alors constitué la liqueur suivante :

Acétate de cuivre	70 gr.
Acétate de soude	100 gr.
Acide acétique	18 cm ³ .
Eau q. s. p ^r	1000 cm ³ .

La dissolution s'est opérée à chaud difficilement et nous avons obtenu, par refroidissement, un précipité que nous avons reconnu être de l'acétate de cuivre. Notre liqueur était donc trop concentrée ; nous avons alors essayé de diminuer, tantôt la quantité d'acétate de cuivre, tantôt l'acétate de soude ; mais, à moins de diminuer notablement la quantité de chacun des deux corps, nous obtenions un précipité cristallin se formant plus ou moins rapidement.

Nous avons eu recours, alors, à une liqueur en deux solutions contenant, l'une l'acétate de cuivre et l'acide acétique, l'autre l'acétate de soude, que nous appellerons, la première : liqueur A, la seconde : liqueur B.

Liquueur A.		Liquueur B.	
Acétate de cuivre	70 gr.	Acétate de soude	400 gr.
Acide acétique	18 cm ³ .	Eau q. s. p ^r .	1000 cm ³ .
Eau q. s. p ^r .	1000 cm ³ .		

Nous avons alors étudié l'action de ce réactif en présence de glucose et en présence de lactose : nous avons pris : 20 cm³ liqueur A, 5 cm³ liqueur B, 5 cm³ liqueur sucrée, soit au total 30 cm³ ; nous obtenons après un chauffage de 10 minutes au bain-marie.

Glucose (en poids)	Lactose (en poids)	Cuivre réduit (en cm ³ Cu N/20)
0,02	0	16,80
0	0,10	0

Les résultats paraissent donc très satisfaisants ; cependant il est assez ennuyeux de ne pouvoir employer que 5 cm³ de liqueur sucrée ; nous avons alors fait des essais en employant 10 cm³ de liqueur sucrée, ce qui porte à 35 cm³ le volume total de chaque prise d'essai. Après un chauffage de 10 minutes au bain-marie, nous obtenons :

Glucose (en poids)	Lactose (en poids)	Cuivre réduit (en cm ³ Cu N/20)
0,02	0	16,40
0	0,10	0

La diminution de réduction n'est donc pas très sensible ; comme, d'autre part, 0 gr., 10 de lactose ne réduisent pas, nous adopterons le procédé suivant :

20 cm³ liqueur A, 5 cm³ liqueur B et 10 cm³ liqueur sucrée, qui a l'avantage de nous donner une plus grande latitude pour le liquide à examiner.

Pour faciliter la conservation de notre liqueur B, nous avons ajouté 4 cm³ d'acide acétique par litre de solution ; pour conserver, dans chaque prise d'essai, la même concentration en acide que précédemment, nous avons été obligé d'abaisser à 17 cm³ la quantité d'acide acétique contenue dans notre liqueur A.

Ayant remarqué que notre liqueur A cristallisait très lentement, nous avons abaissé la quantité d'acétate de cuivre à 69 gr., puis à 68 gr., puis à 67 gr., 50 ; nous obtenions toujours un précipité, très léger il est vrai, mais qui pouvait fausser les résultats ; nous sommes alors descendus à 65 gr. d'acétate de cuivre, ce qui nous a donné une liqueur stable après 2 mois, même après un séjour assez prolongé à la glacière.

Nous avons donc, en définitive, adopté les liqueurs suivantes :

Liqueur A.		Liqueur B.	
Acétate de cuivre	65 gr.	Acétate de soude	400 gr.
Acide acétique	17 cm ³ .	Acide acétique	4 cm ³ .
Eau q. s. p ^r .	1000 cm ³ .	Eau q. s. p ^r .	1000 cm ³ .

La dissolution de l'acétate de cuivre se fait très difficilement, nous conseillons d'opérer de la façon suivante : pulvériser l'acétate de cuivre dans un mortier, peser ; mettre dans un ballon jaugé, mesurer l'acide acétique ; ajouter de l'eau distillée bouillante, agiter. Si la dissolution tarde trop à se faire, plonger le ballon dans un bain-marie bouillant ; au bout de quelque temps, agiter à nouveau jusqu'à dissolution complète, laisser refroidir, compléter à 1000 cm³, filtrer. Comme technique de dosage, nous proposons la technique suivante :

Dans une fiole à fond plat, jaugée à 200 cm³, on met : 20 cm³ de liqueur A, 5 cm³ de liqueur B et 10 cm³ de liqueur sucrée (dans le cas où cette quantité de liqueur sucrée n'est pas atteinte, compléter le volume à 35 cm³ avec de l'eau distillée).

Fermer la fiole par un bouchon traversé d'un long tube et porter au bain-marie 10 minutes exactement.

Refroidir la fiole sous un courant d'eau froide, compléter à 200 cm³ avec de l'eau distillée, mélanger et prélever 50 cm³.

Verser 5 cm³ d'acide chlorhydrique au 1/2 et immédiatement, en agitant, 20 cm³ d'hyposulfite de soude N/10 et 10 cm³ de sulfocyanure de potassium à 20 0/0, préalablement mesurés et mis ensemble dans un vase d'Erlenmeyer.

Titrer, en présence de solution d'amidon, avec une solution d'iode N/20, l'hyposulfite restant ; lorsque la teinte bleue apparaît, verser le contenu du flacon dans le vase d'Erlenmeyer ayant contenu l'hyposulfite de soude et continuer le dosage jusqu'à apparition de teinte bleue.

La différence entre le nombre de cm³ d'iode N/20 nécessaires pour transformer l'hyposulfite de sodium restant, lorsqu'on dose le cuivre total et le cuivre restant après réduction par les sucres réducteurs, indique, en cm³ Cu N/20, la quantité de cuivre réduite.

§ II. — ESSAIS DE VERIFICATION ET DE CONTROLE

Avant de pousser plus loin nos essais sur la liqueur que nous venons d'établir, nous avons tenu à vérifier si les résultats que nous obtenions au moyen de notre mé-

thode de dosage du cuivre étaient exacts. Nous avons donc contrôlé nos essais par la méthode Fleury-Boutot, que nous avons exposée plus haut.

Pour cela sur les 200 cm³ de liqueur, volume auquel nous amenons la prise d'essai après passage au bain-marie, nous avons prélevé : 50 cm³ pour effectuer un dosage par notre méthode et 50 cm³ pour effectuer un dosage de contrôle par la méthode Fleury-Boutot.

Nous avons effectué des dosages : du cuivre total, du cuivre restant après réduction, par 0 gr., 10 de lactose et après réduction par 0 gr., 02 de glucose.

Nous donnons ici les résultats bruts exprimés en cm³ d'hyposulfite de soude N/10 consommés :

Cuivre total		après réduction			
		par 0 gr., 02 de glucose		par 0 gr., 10 de lactose	
		moyennes		moyennes	
Méthode	15,90	} 15,875	14,00	} 14,025	15,80
Fleury-Boutot	15,85		14,00		15,85
Notre.	15,80	} 15,812	13,95	} 13,937	15,80
méthode	15,825		13,925		15,825

Ce qui nous donne donc, comme différence entre le dosage du cuivre avant réduction et le dosage après réduction, par 0 gr., 02 de glucose :

pour la méthode Fleury-Boutot 1 cm³ 85
pour notre méthode 1 cm³ 875

Les résultats comme on le voit sont donc très voisins, et nous pouvons continuer à employer notre méthode de dosage de cuivre.

CHAPITRE V

ESSAIS SUR LA LIQUEUR PRECEDEMMENT ETABLIE

Nous avons soumis notre liqueur à quelques essais sur l'auto-réduction et nous avons étudié ensuite l'action de différents sucres (glucose, lactose et maltose) d'abord seuls, puis en présence les uns des autres.

Enfin ce chapitre se termine par l'étude de l'influence des sels sur notre liqueur.

§ I. — ETUDE DE L'AUTO-REDUCTION

Avant de soumettre notre liqueur à des essais sur la réduction par les sucres, nous avons essayé si elle présentait des phénomènes d'auto-réduction.

Comme il était à prévoir d'après les essais du même genre sur la liqueur de Barfoed en présence d'acétate de soude, nous n'avons trouvé aucune réduction après un chauffage de 10, 20 et même 30 minutes au bain-marie.

Les phénomènes d'auto-réduction, constatés avec la liqueur de Fehling, seraient dus, d'après les uns aux impuretés des produits ; d'après d'autres, comme M. VOLMAR (38) à une altération photochimique de la liqueur, décomposition accompagnée de dégagement gazeux formé surtout par de l'hydrogène ; cette altération se produirait sous l'influence de la lumière et n'au-

rait pas lieu avec des échantillons conservés à l'obscurité. Nous avons alors essayé si la lumière avait également une action sur notre liqueur.

Pour cela, nous avons placé 150 cm³ de notre solution A et 150 cm³ de notre solution B dans des fioles triangulaires de Roux pour bouillons de culture, afin de soumettre la plus grande surface possible à l'action solaire ; malheureusement nos essais ayant été faits en octobre et novembre, nous n'avons pu les soumettre à l'action d'un soleil intensif, mais seulement à la lumière ordinaire.

Après un mois environ, nous n'avons trouvé aucune réduction : un autre essai avec des liqueurs conservées dans les mêmes conditions, mais à l'obscurité, nous a donné les mêmes résultats.

Des essais semblables avec la liqueur de Barfoed nous ont donné des résultats identiques.

Notre liqueur paraît donc bien stable et ne présenter aucun phénomène d'auto-réduction, même après action de la lumière ou de la chaleur.

§ II. — ETUDE DE LA REDUCTION PAR DIFFERENTS SUCRES

Nos essais de vérification par la méthode Fleury-Boutot ayant donné des résultats satisfaisants et, d'autre part, notre liqueur paraissant stable, nous avons essayé d'étudier l'action de différents sucres, tels que glucose, lactose et maltose, sur notre liqueur.

A. — APPLICATION AU GLUCOSE.

Nous avons, tout d'abord, étudié l'action de quantités

variables de glucose, après un chauffage de 10 minutes au bain-marie.

Nous donnons ici la moyenne de quelques essais faits au cours de nos expériences ; cet exposé a uniquement pour but de donner une idée de ce que l'on peut obtenir avec la méthode ; d'autre part, ces essais ayant été faits avec des échantillons d'acétate de cuivre plus ou moins hydratés, nous avons obtenu, dans certains cas, des écarts assez sensibles dus à la différence de concentration en cuivre ; nos chiffres ne sont donc pas, par suite, d'une moyenne absolue.

Glucose (en poids)	Cuivre réduit (en cm ³ Cu N/20)	Glucose (en poids)	Cuivre réduit. (en cm ³ Cu N/20)
0,001	0,20	0,05	33,60
0,002	0,80	0,06	38,20
0,005	3,00	0,08	43,60
0,01	6,80	0,09	46,80
0,02	14,80	0,10	51,00
0,03	21,80	0,25	78,80
0,04	27,40	0,50	98,60

Notre réactif est donc assez sensible puisqu'on obtient une réduction nette avec 0 gr., 002 de glucose. Ayant remarqué quelques écarts au cours de nos expériences, nous avons pensé qu'ils provenaient probablement de ce que nous n'étions pas au bout de la réduction ; nous avons donc essayé de prolonger l'action du bain-marie ; ces écarts étaient surtout sensibles avec de fortes quantités de glucose, nous avons donc fait quelques essais avec 0 gr., 02 de glucose et avec 0 gr., 10. Nous obtenons les résultats suivants :

Temps de chauffage. en minutes)	Glucose. (en poids)	Cuivre réduit. (en cm ³ Cu N/20)
—	—	—
10	0,02	14,80
15	»	15,40
20	»	16,80
40	»	17,40
10	0,10	51,00
20	»	61,40
40	»	66,80

Nous voyons donc que la réduction n'est pas complète après un chauffage de 10 minutes au bain-marie, et il importe, pour avoir des résultats exacts, de laisser la fiole 10 minutes exactement au bain-marie.

Nous avons vu précédemment que la concentration en cuivre avait une influence considérable sur la réduction par le glucose, il nous a paru intéressant d'examiner, si en augmentant la durée de chauffage, on pouvait, avec une liqueur diluée, arriver au même résultat qu'avec la liqueur pure : nous avons donc fait les essais suivants avec 0 gr., 02 de glucose :

Temps de chauffage		Cuivre réduit. (en cm ³ Cu N/20)	
(en minutes	Liquueur pure	liqueur diluée au 1/2	liqueur diluée au 1/4
—	—	—	—
10	14,80	12,40	7,60
20	16,40	15,80	9,80
40	16,80	16,20	10,15
80	17,40	16,80	12,50
160	17,40	17,40	14,30

Il semble donc bien, que, jusqu'à un certain point, en augmentant le chauffage on puisse arriver à obtenir avec une liqueur diluée, le même résultat qu'avec la liqueur pure.

B. — APPLICATION AU LACTOSE

Nous avons alors examiné quelle était l'action du lactose ; nous obtenons les résultats suivants, après un chauffage de 10 minutes au bain-marie :

Lactose (en poids)	Cuivre réduit (en cm ³ Cu N/20)
—	—
0,20	1,40
0,10	0
0,08	0

Nous n'obtenons donc aucune réduction par 0 gr., 10 de lactose ; nous avons d'ailleurs contrôlé ce résultat par la méthode Fleury-Boutot.

Nous avons vu précédemment qu'après un chauffage de 10 minutes au bain-marie la réduction par le glucose n'était pas complète, nous avons voulu examiner s'il ne serait pas possible d'augmenter la durée de chauffage pour obtenir une plus grande réduction par le glucose sans obtenir de réduction par 0 gr., 10 de lactose. Nous avons donc fait quelques essais avec 0 gr., 10 et 0 gr., 08 de lactose.

Nos résultats sont exprimés en cm³ Cu N/20 :

Temps de chauffage (en minutes).	Lactose (en poids).	
	0,08	0,10
—	—	—
10	0	0
15	0,60	1,20
20	1,40	2,20
40		7,80

Il semble donc bien impossible d'augmenter la durée du chauffage sans provoquer immédiatement, même avec 0 gr., 08 de lactose, une réduction assez sensible ; nous continuerons donc à effectuer nos dosages après un chauffage de 10 minutes au bain-marie.

Glucose en présence de lactose.

Nous avons voulu étudier ensuite si la présence de 0 gr., 10 de lactose dans une solution de glucose ne changeait pas les résultats du dosage : nous avons alors fait les essais suivants, en faisant varier le glucose et le lactose. Après un chauffage de 10 minutes au bain-marie, nous trouvons (en exprimant nos résultats en cm^3 Cu N/20) :

Lactose (en poids).	Glucose (en poids).		
	0,01	0,02	0,06
—	—	—	—
0	6,80	14,80	38,20
0,10	8,60	15,80	38,20
0,08	8,00	15,40	38,20
0,04	7,60	15,00	
0,02		15,00	

Il semble résulter de ces essais que le lactose est entraîné par la réduction du glucose et cet entraînement est d'autant plus sensible que la quantité de glucose à doser est plus faible ; c'est ainsi qu'en présence de 0 gr., 06 de glucose nous ne trouvons aucune modification, tandis qu'avec 0 gr., 01 de glucose nous trouvons, au contraire, un entraînement très sensible.

Nous avons, d'ailleurs, vérifié quelques-uns de ces essais, en particulier ceux avec 0 gr., 02 de glucose, par la méthode Fleury-Boutot, nous obtenons des résultats identiques.

Nous avons ensuite essayé de diminuer la quantité totale de sucres réducteurs et nous avons fait des dosages avec des quantités variables de glucose et de lactose dont le total équivalait à 0 gr., 050 de sucres réducteurs.

Nous avons, d'autre part, porté la durée du chauffage de 10 à 15 minutes, après nous être assuré que nous n'avions aucune réduction par 0 gr., 05 de lactose. Nous remarquons alors, qu'en présence de 0 gr., 005 de glucose et de 0 gr., 045 de lactose, il se produit encore un léger entraînement du lactose ; de plus, dans certains cas, avec des quantités plus fortes de glucose on obtient des écarts de réduction, ce qui serait expliqué par ce fait que l'on se trouve sur la limite de réduction du lactose et que, par suite, quelquefois, le lactose se trouve lui-même réduit.

Il semble donc assez difficile, dans ces conditions, d'obtenir des résultats très précis pour la réduction du glucose en présence de lactose.

On se trouve, en effet, en présence de ce dilemme : ou diminuer la durée du chauffage pour ne pas obtenir de réduction par le lactose, mais alors, le glucose n'étant pas oxydé complètement, on obtient des écarts de réduc-

tion et on diminue la sensibilité au glucose ; ou augmenter la durée du chauffage pour avoir la réduction totale par le glucose, mais alors le réactif devient sensible à des doses de lactose de plus en plus faibles ou bien on obtient des phénomènes d'entraînement du lactose qui faussent les résultats.

Nous avons ensuite examiné si nous observions les mêmes phénomènes avec le maltose.

C. — APPLICATION AU MALTOSE.

Le maltose réduit également la liqueur de Fehling, mais son pouvoir réducteur est inférieur de plus d'un tiers à celui du glucose ; nous avons voulu essayer quelle était son action sur notre liqueur.

Nous avons alors soumis des doses variables de maltose à l'action de notre liqueur ; nous obtenons les résultats suivants :

Maltose (en poids).	Cuivre réduit (en cm ³ Cu N/20).
0,20	8,00
0,10	2,90
0,08	2,00
0,06	0,40
0,04	0
0,02	0

Avec 0 gr., 06 de maltose, on se trouve sur la limite de réduction ; dans certains cas même, on n'observe aucune réduction : pour plus de sûreté nous considérons 0 gr., 05 de maltose comme quantité maxima. Nous

avons voulu examiner si nous retrouvions les mêmes phénomènes d'entraînement observés déjà précédemment pour le lactose en présence de glucose. Pour cela nous avons fait les essais suivants :

Maltose (en poids).	Glucose (en poids).	Cuivre réduit (en cm ³ Cu N/20).
0,05	0	0,40
0	0,01	7,20
0,05	»	9,00
0	0,02	14,80
0,05	»	15,80
0,02	»	14,80
0	0,06	38,20
0,05	»	38,60

Nous retrouvons donc avec le maltose les mêmes phénomènes d'entraînement qu'avec le lactose : entraînement également beaucoup plus sensible en présence de petites quantités de glucose qu'en présence de quantités assez fortes.

Nous avons ensuite fait quelques essais en mettant simultanément, glucose, lactose et maltose, nous obtenons :

Maltose (en poids).	Glucose (en poids).	Lactose (en poids).	Cuivre réduit (en cm ³ Cu N/20).
0,05	0	0	0,40
0	0,02	0	14,80
0	0	0,10	0
0,05	0	0,10	3,20
0,05	0,02	0	15,80
0	0,02	0,10	15,80
0,05	»	»	17,00

Le maltose semble donc être entraîné également par le lactose seul et cet entraînement est encore plus sensible lorsque ces deux corps se trouvent en présence de glucose.

Conclusion. — En résumé, les expériences précédentes montrent que la différence d'action du glucose, du lactose et du maltose sur l'acétate de cuivre en milieu acétique se borne à une action quantitative et non point qualitative. En effet, s'il est possible de n'obtenir, avec 0 gr., 10 de lactose, aucune réduction après un chauffage de 10 minutes au bain-marie, on obtient une réduction sensible dès que l'on dépasse ce temps ; d'autre part, cette même quantité de lactose qui ne réduit pas, seule, se trouve entraînée dès qu'elle se trouve en présence de glucose ; cet entraînement est d'ailleurs, ainsi que nous l'avons montré, d'autant plus fort que la quantité de glucose est plus faible ; avec une forte quantité de glucose, au contraire, cette même quantité de lactose reste sans effet et ne donne pas de réduction.

Il est donc difficile dans ces conditions d'opérer, d'une façon à la fois très sensible et précise, un dosage de glucose en présence de lactose.

§ III. — INFLUENCE DES SELS ALCALINS ET ALCALINO-TERREUX

Nous avons vu précédemment que, dans le procédé Le Grand, la présence de sels alcalins ou alcalino-terreux gênait la réaction par suite de la formation de précipités basiques ; nous avons vu, d'autre part, que l'addition d'acétate de soude au réactif de Barfoed empêchait la for-

mation de ces précipités. Cependant nos essais précédents se sont bornés à la simple constatation de formation ou non de précipités basiques ; nous avons voulu approfondir notre étude et savoir si l'action des différents sels alcalins ou alcalino-terreux se bornait uniquement à la formation de précipités et n'avait pas d'influence sur la réduction par les sucres réducteurs. Pour cela nous avons fait des essais avec chacun de ces différents sels mis en contact, dans chaque expérience, simultanément avec 0 gr., 02 de glucose.

Nous avons étudié successivement, d'une part, les sels des métaux alcalins et, d'autre part, les sels des métaux alcalino-terreux.

I. — SELS DES MÉTAUX ALCALINS

Les sels étudiés ont été : le sulfate de sodium, le chlorure de sodium, le nitrate de sodium, le nitrite de sodium, le bromure de potassium et l'iodure de potassium.

1° Sulfate de sodium. — Si nous nous reportons aux essais faits avec le réactif de Barfoed, nous voyons que 0 gr., 10 de sulfate de sodium ajouté à la liqueur donne un précipité basique qui ne se forme pas si l'on ajoute 2 gr. d'acétate de soude. Un nouvel essai, avec 0 gr., 10 de sulfate de sodium ajouté à notre liqueur, ne nous donne, après un chauffage de 10 minutes au bain-marie, aucun précipité basique et le dosage nous montre que ce corps ne réagit pas sur notre liqueur.

Mettant alors 0 gr., 02 de glucose en contact avec notre liqueur contenant 0 gr., 10 de sulfate de sodium, nous

ne constatons, après un chauffage de 10 minutes au bain-marie, aucune différence dans la réduction ; les résultats sont les mêmes avec ou sans sulfate de soude.

Des essais faits avec 0 gr., 10 de lactose ne nous montrent aucune réduction dans les deux cas.

Des essais semblables avec le réactif de Barfoed, mais en présence de 2 gr. d'acétate de soude, nous ont donné des résultats identiques.

Conclusion. — Nous pouvons donc conclure que la présence de 0 gr., 10 de sulfate de soude n'a aucune influence sensible sur la réduction.

2° Chlorure de sodium. — Nous avons renouvelé les mêmes essais avec le chlorure de sodium. A partir de 0 gr., 10 de chlorure de sodium nous obtenons la formation d'un précipité basique.

Prenant donc 0 gr., 08 de chlorure de sodium comme quantité limite, nous avons étudié l'influence de ce sel sur la réduction ; un dosage préalable nous a montré que ce dernier n'avait aucune action sur la liqueur cuivrique.

Mettant en contact 0 gr., 02 de glucose avec notre liqueur, à laquelle nous avons ajouté 0 gr., 08 de chlorure de sodium, par prise d'essai, nous n'obtenons, après 10 minutes au bain-marie, qu'un très léger précipité d'oxydure à peine perceptible ; précipité si léger que nous avons cru, tout d'abord, après un examen rapide, qu'il n'y avait aucune réduction ; cependant le dosage nous montre qu'il y a eu réduction, mais réduction beaucoup plus faible. Nous trouvons en effet un écart de 6 cm³ Cu N/20 entre le dosage sans chlorure et le dosage en présence de chlorure ; la réduction par le glucose est

donc fortement diminuée par suite de la présence des chlorures.

Des essais semblables avec 0 gr., 10 de lactose ne nous ont montré aucune réduction, dans un cas comme dans l'autre.

Voulant nous rendre compte si cette action des chlorures se manifestait également avec le réactif de Barfoed, nous avons fait des essais avec ce réactif, mais en ajoutant 2 grammes d'acétate de soude, pour éviter la formation de précipité basique. Les résultats nous ont montré que cette diminution de réduction se faisait également sentir avec le réactif de Barfoed.

Variation des chlorures. — Devant cette action manifeste des chlorures, nous avons voulu savoir si cette diminution de réduction variait parallèlement avec la concentration en chlorure.

Nous avons alors fait des essais avec 0 gr., 02 de glucose, en présence de 0 gr., 02, 0 gr., 04, 0 gr., 06 et 0 gr. 08 de chlorure de sodium. Après plusieurs essais avec la liqueur contenant 67 gr. 0/00 d'acétate de cuivre, nous trouvons comme moyenne de réduction :

Chlorure de sodium (en poids).	Concentration par litre. de liqueur sucrée.	Cuivre réduit (en cm ³ Cu N/20).
0,08	8	9,40
0,06	6	11,20
0,04	4	13,40
0,02	2	15,00
0	0	16,00

Nous voyons donc que nous trouvons une réduction de plus en plus forte, se rapprochant de la réduction nor-

male, au fur et à mesure que nous diminuons la quantité de chlorure de sodium ; cependant, même avec 0 gr., 02 de chlorure, soit 2 gr. par litre de liqueur sucrée, la diminution de réduction se fait encore sentir.

Dans tous ces cas, l'oxydule n'apparaît qu'en très petite quantité ; le sulfate de cuivre au lieu de se précipiter à l'état d'oxydule, se trouve probablement réduit, en partie, à l'état de chlorure cuivreux soluble ; les méthodes qui consisteraient, soit à peser l'oxydule formé, soit, comme dans la méthode de BERTRAND (4), à utiliser les propriétés réductrices de l'oxydule recueilli après filtration, donneraient des résultats certainement très inférieurs à la vérité.

Variation du temps de chauffage. — Nous avons voulu examiner si cette diminution de la réduction était due à un véritable arrêt ou bien simplement à une diminution de rapidité de la réduction.

Nous avons alors fait des essais en effectuant le dosage après un séjour de 10, 20, 40 et 80 minutes au bain-marie. Nous obtenons les résultats suivants :

Temps de chauffage (en minutes).	Glucose (en poids).	Chlorure de sodium (en poids).	Cuivre réduit (en cm ³ Cu N/20).
10	0,02	0,08	9,40
20	»	»	13,20
40	»	»	13,80
80	»	»	14,60
10	»	0	16

Après 160 minutes nous obtenions un léger précipité basique, dû probablement à l'évaporation de l'acide acétique, qui gêne la réaction.

Le terme final de la réduction n'est donc pas atteint complètement ; cependant on peut conclure que l'action des chlorures se borne à un effet inhibiteur et non pas à un phénomène d'arrêt brutal de la réduction.

D'ailleurs COOPER et WALKER (10) faisant des expériences sur le dosage du sucre dans le sang humain et opérant après hydrolyse par l'acide chlorhydrique constatèrent, qu'après hydrolyse, la substance réductrice était détruite. Incriminant le chlorure de sodium qui prenait naissance par action de l'acide chlorhydrique sur le sulfate de soude restant en excès, après précipitation des protéines (Méthode Mac Lean), ces auteurs firent de nouveaux essais et constatèrent que la présence de chlorure de sodium, dans la proportion de 5 0/0, avait un véritable pouvoir inhibiteur sur le pouvoir réducteur de l'extrait de sang humain.

Ils firent alors des essais sur le glucose et le maltose purs qui leur donnèrent des résultats identiques :

		En l'absence de chlorure de sodium.	Chlorure de sodium 5 0/0.
Sucre du sang.	1°	0,10	0,05
	2°	0,085	0,024
		0,243 avec addition de glucose.	0,199
Glucose.	1° dans l'eau	0,102	0,087
	dans 15 0/0 SO^4Na^2	0,102	0,082
	2° dans l'eau	0,100	0,075
	dans 15 0/0 SO^4Na^2	0,105	0,057
	3° dans 15 0/0 SO^4Na^2	0,091	0,035
		0,231	0,139

Maltose.	1° dans l'eau	0,071	0,032
	dans 15 0/0 SO^4Na^2	0,090	0,055
	2° dans l'eau	0,080	0,078
	dans 15 0/0 SO^4Na^2	0,070	0,000

D'après ce tableau, nous voyons que le chlorure de sodium, à une concentration de 5 0/0, diminue considérablement le pouvoir réducteur du glucose et du maltose, puisque cette diminution va de 20 jusqu'à environ 50 0/0.

D'autre part, le sulfate de soude n'a pas d'effet sensible : ce qui amène les auteurs à penser que c'est l'ion halogène qui exerce l'effet spécifique.

COOPER et WALKER avaient également étudié si cet effet inhibiteur du chlorure de sodium était dû à une diminution de rapidité de la réaction. Etendant la période d'ébullition de 6 à 10 minutes, ils trouvent des résultats plus élevés au bout de 10 minutes ; ce qui prouverait donc bien également que l'on se trouve seulement en présence d'une diminution de rapidité de la réaction. Voici d'ailleurs leurs résultats :

Temps d'ébullition.				
Sans chlorure de sodium.	6 min.	0,070	0,0040	0,0034
	10 min.	»	0,0047	0,0047
Avec chlorure de sodium.	6 min.	0,0042	0,0028	0,0028
	10 min.	0,0066	0,0039	0,0037

D'après ces auteurs, ce retard pourrait être dû aux composés d'addition que le glucose forme avec les sels halogénés, composés dont la présence a été reconnue ; cependant ce retard, d'après les auteurs, est observé même lorsque le sel est ajouté après avoir porté la solu-

tion de sucre à l'ébullition, bien qu'il soit peu probable qu'un sel, composé instable, puisse se former dans ces conditions. Ce composé serait donc beaucoup plus stable qu'on ne le croit ordinairement.

Le réactif employé par les auteurs était celui de Mac Lean (1), réactif dont l'alcalinité est relativement faible par rapport à celle de la liqueur de Fehling ; néanmoins, l'action retardatrice des chlorures se manifeste déjà ; comme, d'autre part, avec la liqueur de Fehling, ainsi que nous le verrons plus loin, on ne trouve aucune différence entre les dosages, avec ou sans chlorure de sodium, il faudrait admettre que l'ion halogène exerce un effet spécifique plus grand en milieu acide qu'en milieu alcalin et que les composés d'addition qui se forment et sont peut-être l'origine de cette diminution de rapidité de la réaction, auraient tendance à être plus stables, au fur et à mesure qu'augmenterait l'acidité.

Variation de la concentration en acide. — Nous avons voulu vérifier cette hypothèse en faisant varier la concentration en acide. Nous avons alors fait des essais avec 0 gr., 02 de glucose et 0 gr., 08 de chlorure de sodium, mis en contact avec des liqueurs contenant, l'une 50 0/0 en plus, l'autre le double d'acide acétique. Nous obtenons : (20 cm³ liqueur A contiennent 0 cm³, 34 d'acide acétique).

(1) Formule du réactif de Mac Lean :

Bicarbonate de potasse.....	20 gr.
Carbonate de potasse.....	10 gr.
Solution de sulfate de cuivre à 5 0/0.....	15 gr.
Iodure de potassium.....	1 gr.
Iodate de potassium.....	0 gr. 1
Eau distillée q. s. p.....	100 gr.

Conditions expérimentales :

20 cm³ liqueur A.
 5 cm³ liqueur B.
 0, gr., 02 de glucose.
 Eau q. s. p^r. 35 cm³.

Les résultats donnent le cuivre réduit exprimé en cm³
 Cu N/20.

Acide acétique (en cm ³)	Chlorure de sodium		Différence
	0	0 gr., 08	
0	14,80	9,20	5,60
0,17	12,60	4,60	8,00
0,34	8,40	1,20	7,20

La différence entre les dosages avec ou sans chlorure, augmente donc avec une concentration croissante en acide : elle paraît cependant passer par un maximum. Pour compléter nos recherches, nous avons repris la solution d'acétate de cuivre au 1/15 qui nous avait servi à préparer le réactif de Barfoed ; à chaque prise d'essai de 20 cm³, nous avons ajouté des quantités variables d'acide acétique et effectué les dosages suivants :

Conditions expérimentales :

20 cm³ solution d'acétate de cuivre au 1/15.
 5 cm³ liqueur B.
 0 gr., 02 de glucose.
 Eau q. s. p^r. 35 cm³.

Les chiffres donnent le cuivre réduit exprimé en cm³
 Cu N/20.

Acide acétique (en cm ³).	Chlorure de sodium		Différence
	0	0 gr., 08	
0,085	Précipité basique	Précipité basique	
0,17	13,60	8,80	4,80
0,34	13,80	9,00	4,80
0,68	7,40	0,20	7,20
1,36	0	0	

Nous obtenons donc des résultats identiques aux précédents : diminution de la vitesse de la réduction avec augmentation de la concentration en acide.

En résumé, la concentration en acide paraît avoir une influence notable sur l'action du chlorure de sodium : la diminution de réduction, qui n'est d'ailleurs qu'une diminution de vitesse, causée par la présence des chlorures, augmente avec une concentration en acide plus forte, passe par un maximum et décroît ensuite, la réduction par le glucose étant elle-même de plus en plus faible au fur et à mesure que l'on augmente la concentration en acide.

Action combinée du chlorure de sodium et du sulfate de sodium. — Nous avons tenu à vérifier si la présence simultanée de chlorure de sodium et de sulfate de sodium avait une influence autre que celle du chlorure de sodium seul.

Pour cela nous avons fait des essais, où nous avons mis en présence : 0 gr., 02 de glucose, 0 gr., 08 de chlorure de sodium et 0 gr., 10 de sulfate de sodium. Après un chauffage de 10 minutes au bain-marie, nous obtenons des résultats sensiblement pareils à ceux obtenus avec le chlorure de sodium seul.

L'action du sulfate de sodium, en présence de chlorure de sodium est donc nulle et, seule, l'action de ce dernier se fait sentir.

Elimination des chlorures. — Devant les difficultés occasionnées par la présence des chlorures, nous avons essayé d'éliminer ces derniers.

Des essais avec l'acétate de plomb ne nous ayant pas donné des résultats satisfaisants, nous avons eu recours à l'acétate d'argent.

Calculant qu'il nous fallait 22 gr., 83 d'acétate d'argent pour éliminer les chlorures dans un liquide sucré contenant 8 0/00 de chlorure de sodium, nous avons fait des essais en laissant, soit un excès d'argent, soit un très léger excès de chlorure.

Pour cela nous avons fait une solution contenant 2 gr. de glucose et 8 gr. de chlorure de sodium par litre. Prélevant deux parts de 50 cm³ nous avons ajouté, dans l'une, 1 gr., 25 d'acétate d'argent, pour avoir un excès d'argent et, dans l'autre, 1 gr., 07 pour avoir un léger excès de chlorure. Nous avons agité chacune des deux solutions pendant un quart d'heure environ ; après filtration, et après nous être assurés que l'azotate d'argent ne donnait aucun précipité dans le premier cas et produisait un léger louche dans le second, nous avons effectué le dosage ; dans les deux cas nous trouvons les mêmes résultats qu'avec une solution témoin ne contenant pas de chlorure. Un autre essai, après avoir débarrassé la liqueur de l'excès d'acétate d'argent, au moyen de la poudre de zinc, nous a donné des résultats identiques.

Les chlorures peuvent donc être éliminés par l'acétate d'argent, sans qu'un petit excès de ce corps ou un léger

reste de chlorure puisse influencer sensiblement sur la réduction.

Conclusion. — En résumé, la diminution de réduction, causée par la présence des chlorures, est due principalement à une diminution de la vitesse de la réaction. Cette influence, qui ne se manifeste pas en milieu alcalin, comme nous le verrons plus loin, commence à se montrer en milieu carbonaté mais nécessite des quantités assez fortes de chlorure de sodium, tandis qu'en milieu de plus en plus acide la diminution de réduction augmente de plus en plus.

Dans le dosage d'un liquide sucré contenant du chlorure de sodium, il convient donc, pour avoir des résultats exacts, avec notre liqueur, de calculer préalablement les chlorures et, ensuite, de les éliminer, à l'aide de l'acétate d'argent, à raison de 2 gr., 85 d'acétate par gramme de chlorure contenu dans un litre de la liqueur à examiner.

3° Bromure de potassium. — COOPER et WALKER, ayant étudié l'action des bromures sur la liqueur de Mac Lean, notent que les bromures ont également une influence sur la réduction. Nous avons fait quelques essais en employant 0 gr., 16 de bromure de potassium, quantité à peu près équivalente à 0 gr., 08 de chlorure de sodium.

Après un chauffage de 10 minutes au bain-marie, en présence de 0 gr., 02 de glucose et 0 gr., 16 de bromure de potassium, nous obtenons, au lieu d'un précipité d'oxydure rouge, un précipité gris blanc paraissant être du bromure cuivreux ; ce précipité paraît d'ailleurs très instable car deux dosages faits avec la même prise d'essai, à 10 ou 15 minutes d'intervalle, montrent une

réduction plus faible dans le second dosage ; il y a donc eu probablement réoxydation. Il se produirait, d'autre part, probablement, des composés d'addition comme avec le chlorure de sodium ; nous trouvons, en effet, une diminution de 2 cm³ 20, en moyenne, dans la réduction, par 0 gr., 02 de glucose, en présence de 0 gr., 16 de bromure de potassium.

Conclusion. — Il semble donc que le bromure de potassium ait une influence comparable à celle du chlorure de sodium, mais à un degré moindre.

4° Iodure de potassium. — Nous avons renouvelé les mêmes essais, en présence de 0 gr., 23 d'iodure de potassium, quantité à peu près équivalente à 0 gr., 08 de chlorure de sodium ; nous ne trouvons, dans ce cas que des différences peu sensibles : 0 cm³, 2 à 0 cm³, 4, entre les dosages sans iodure et les dosages en présence d'iodure. Cooper et Walker avaient également trouvé que les iodures avaient une influence sur la réduction par les sucres.

Conclusion. — L'iodure de potassium, à la dose de 0 gr., 23, ne paraît pas avoir une influence très sensible sur la réduction de notre liqueur par le glucose.

Des essais effectués avec des quantités variables de bromure et d'iodure de potassium, mis simultanément dans une solution de chlorure de sodium, pour essayer de bloquer l'action retardatrice des chlorures, n'ont donné aucuns résultats ; il se forme un précipité plus ou moins stable et le terme de la réaction est à peu près le même qu'avec le chlorure de sodium seul.

5° Nitrate de sodium. — L'emploi du réactif de PATEIN et DUFAU (1), comme défécant (29), laissant des traces de nitrate, nous avons examiné si ce sel pouvait gêner la réduction.

Prenant 0 gr., 20 de nitrate de sodium, quantité bien supérieure à celle susceptible de rester dans le liquide à examiner après défécation et filtration, nous avons fait quelques essais en présence de 0 gr., 02 de glucose. Après un chauffage de 10 minutes au bain-marie, nous n'obtenons aucune différence dans la réduction par le glucose. D'autres essais avec 0 gr., 11 de nitrate de sodium, quantité équivalente à 0 gr., 08 de chlorure de sodium, nous permettent de tirer les mêmes conclusions. La réduction par le lactose ne subit également aucun changement.

Conclusion. — Le nitrate de sodium, en milieu acétique, paraît n'avoir aucune influence sur la réduction par le glucose ou par le lactose.

6° Nitrite de sodium. — BOUTOT (5) signale les inconvénients dus à l'emploi du réactif de Patein comme défécant : par suite de la présence de nitrites, il se produit une libération d'iode, rendant la lecture incertaine et faussant les résultats.

Ces nitrites sont dus à l'action de l'hydrogène, produit par le zinc en milieu légèrement acide, sur le nitrate resté en solution. Boutot avait vérifié cette hypothèse en agitant une pincée de poudre de zinc, en milieu légè-

(1) Réactif de Patein et Dufau :

Oxyde rouge de mercure.	220 gr.
Acide azotique à 40° BCD = 1,39	160 cm ³ .
Lessive de soude au 1/4.	40 cm ³ .
Eau distillée, q. s. p ^r	1000 cm ³ .

rement sulfurique, dans une solution de nitrate de soude; ajoutant ensuite de l'iodure de potassium au filtrat, il avait constaté une libération d'iode; l'iode libéré étant absorbé par l'hyposulfite, il s'en dégageait aussitôt une nouvelle quantité.

Nous avons alors fait quelques essais en ajoutant 0 gr., 01 de nitrite; nous obtenons des résultats défectueux; le dosage du cuivre total est lui-même faussé. D'autre part, la teinte bleue légère obtenue à la fin de la réaction se fonce de plus en plus, indiquant la mise en liberté de nouvelles quantités d'iode.

Le nitrite de sodium gêne donc le dosage.

Conclusion. — Il sera donc impossible, comme dans la méthode de Fleury-Boutot, d'employer le réactif de Patein et Dufau comme défécant.

Pour éviter cette cause d'erreur, il faudrait employer un courant d'acide sulfhydrique ou peut-être le cuivre, pour éliminer le mercure.

II. — SELS DES MÉTAUX ALCALINO TERREUX

L'action des sels de calcium, en particulier, de l'hydroxyde de calcium, sur la liqueur de Fehling a été étudiée par divers auteurs, qui ont montré l'action retardatrice de ce corps sur la réduction par les sucres. Des essais avec la liqueur de Fehling, comme nous le verrons plus loin, nous ayant confirmé ces résultats, nous avons examiné si les mêmes phénomènes se produisaient avec notre liqueur acétique. Nous avons étudié, successivement, les sels de calcium et les sels de baryum.

Sels de calcium.

Chlorure de calcium. — Pour faire notre étude, nous avons ajouté à notre liqueur 0 gr., 15 de chlorure de calcium, quantité à peu près équivalente (en Cl) à 0 gr., 08 de chlorure de sodium. Après un chauffage de 10 minutes au bain-marie, nous obtenons, avec 0 gr., 02 de glucose, une diminution de 6 cm³, 20 pour la quantité de cuivre réduit. Un autre essai avec 0 gr., 06 de chlorure de calcium nous montre une diminution de 2 cm³, 40. Nous avons pratiqué cet essai pour obtenir la même concentration en sel, que LEWIS EYNON et HENRY LANE (12) dans leur étude sur l'influence des sels de calcium dans la réduction de la liqueur de Fehling par les sucres réducteurs.

Nous voyons donc que le chlorure de calcium entraîne une diminution de la réduction, diminution qui croît avec une augmentation de concentration de ce sel.

Nitrate de calcium. — Devant les écarts causés par le chlorure de calcium, nous avons étudié si c'était l'ion halogène Cl ou l'ion Ca qui causait ce trouble. Des essais avec 0 gr., 16 de nitrate de calcium, quantité équivalente à 0 gr., 08 de chlorure de sodium et avec 0 gr., 20, pour obtenir la même concentration en sel que Lewis Eynon et Henry Lane, ne nous montrèrent aucune différence dans la réduction par le glucose. Ce n'est donc pas l'ion Ca qu'il faut incriminer.

Sels de baryum.

Chlorure de baryum. — Nous avons voulu constater si nous obtenions, avec les sels de baryum, les mêmes

résultats qu'avec les sels de calcium. Prenant 0 gr., 16 de chlorure de baryum, quantité équivalente (en Cl) à 0 gr., 08 de chlorure de sodium, nous constatons, qu'après réduction par 0 gr., 02 de glucose, nous obtenons une diminution de réduction de 6 cm³. Nous nous trouvons donc en présence des mêmes phénomènes qu'avec le chlorure de calcium.

Nitrate de baryum. — Quelques essais avec 0 gr., 18 de nitrate de baryum, toujours dans les mêmes conditions, ne nous donnent aucune différence dans la réduction par le glucose : ce n'est donc pas l'ion Ba qui modifie la réduction.

Conclusion pour les sels des métaux alcalino-terreux.
— Si l'on examine les résultats obtenus avec les sels de calcium et les sels de baryum, on remarque leur analogie complète : aucune différence avec les nitrates, même diminution de réduction avec les chlorures ; si, d'autre part, on se reporte à l'article sur les chlorures, on remarque, qu'avec des quantités équivalentes (en Cl) de chlorure de sodium, de chlorure de baryum et de chlorure de calcium, on trouve une diminution de réduction sensiblement la même : 6 cm³ à 6 cm³, 20. C'est donc bien à l'ion halogène Cl qu'il faut attribuer cette diminution de la réduction, qui est due en grande partie, ainsi que nous l'avons vu précédemment, à une diminution de vitesse de la réaction.

Nous n'avons pas cru utile de poursuivre nos essais avec les sels de strontium ; les résultats devant être, vraisemblablement, les mêmes qu'avec les sels de calcium ou de baryum.

CONCLUSION

En résumé, les sels halogénés : chlorures, bromures et iodures, paraissent avoir une influence retardatrice sur la réduction par les différents sucres. Cette influence très sensible avec les chlorures l'est beaucoup moins avec les bromures et devient presque nulle avec les iodures.

Pour faire un dosage exact il convient donc d'éliminer les sels halogénés.

D'autre part, le métal des sels alcalino-terreux, qui, comme nous le verrons plus loin, diminue la vitesse de réduction en milieu alcalin, n'a ici aucune influence.

QUATRIÈME PARTIE

Réduction des sels de cuivre par le glucose en milieu acide et en milieu alcalin. Étude comparative.

A la suite de quelques remarques faites au cours de notre travail, nous avons pensé qu'il y aurait peut-être quelque intérêt à comparer, dans diverses conditions, l'action réductrice du glucose sur les sels de cuivre, selon que ce métal est en solution, soit alcaline, soit acide. Nous exposons, dans cette partie, quelques-uns des essais que nous avons faits en liqueur alcaline avec la solution de Bertrand, parallèlement avec notre liqueur acide. Nous avons étudié successivement l'influence de la mannite, l'auto-réduction, l'influence : de la dilution, de la concentration en alcalin et de la concentration en cuivre ; après une comparaison de pouvoir réducteur du glucose en milieu alcalin et en milieu acide, nous avons terminé par une étude sur l'action des sels dans la liqueur de Bertrand.

CHAPITRE I

INFLUENCE DES DIFFERENTS CONSTITUANTS

Avant d'aborder l'étude de chacun des constituants de la liqueur de Fehling, nous avons fait quelques essais sur l'influence de la mannite.

§ I. — INFLUENCE DE LA MANNITE

Nous avons vu, précédemment, que la mannite avait un effet inhibiteur sur la réduction par le glucose ; nous avons alors fait quelques essais, en présence de 0 gr., 02 de glucose et de quantités variables de mannite en employant, comme le conseille Boutot : 10 cm³ de liqueur A, 10 cm³ de liqueur B et nous avons complété le volume à 40 cm³, après avoir ajouté 0 gr., 02 de glucose.

Après un chauffage de 7 minutes au bain-marie, nous obtenons les résultats suivants :

Mannite (en poids).	Cuivre réduit (en cm ³ Cu N/20).
0	12,15
0,10	12,00
0,20	11,90
0,30	11,65
0,50	11,65

Nous voyons donc que nous retrouvons ici, mais fortement diminués, les mêmes écarts que nous obtenions avec la liqueur de Barfoed. La mannite semble donc, en milieu alcalin, diminuer, mais à un degré moindre qu'en milieu acide, la vitesse de réduction par le glucose.

Un essai témoin avec 0 gr., 50 de mannite seule nous avait montré une réduction à peine sensible ; en tous cas, l'action inhibitrice de la mannite reste très marquée.

§ II. — ETUDE DE L'AUTO-REDUCTION

De nombreux auteurs ont constaté que la liqueur de Fehling présentait des phénomènes d'auto-réduction assez sensibles. Nous l'avons, d'ailleurs, vérifié nous-mêmes au cours de plusieurs essais.

Prenant 10 cm³ de liqueur A Bertrand et 10 cm³ de liqueur B Bertrand, nous avons, après avoir complété le volume à 40 cm³, effectué un premier dosage du cuivre à froid et les autres après un chauffage plus ou moins long au bain-marie : nous obtenons alors les résultats suivants :

Temps de chauffage (en minutes).	Cuivre réduit). (en cm ³ Cu N/20).
7	0,20
15	0,45
30	0,75

Nous avons donc une réduction très sensible ; notre liqueur datant déjà de plusieurs jours, nous avons contrôlé ces résultats avec une liqueur que nous venions de préparer ; les résultats ont été sensiblement les mêmes.

La liqueur de Fehling présente donc des phénomènes

d'auto-réduction évidents ; d'ailleurs QUISIMBING et THOMAS (32), après beaucoup d'autres expérimentateurs, avaient constaté ces phénomènes ; mais à l'encontre de certains auteurs, ils prétendent que cette auto-réduction est due, non pas entièrement aux impuretés de la solution tartro-alkaline, mais aussi à la durée et à la méthode de chauffage.

Ils opèrent au bain-marie à 80° et, après 30 minutes de chauffage, ils n'observent aucune réduction, à condition que la liqueur ait été conservée à l'obscurité. L'action de la lumière sur la conservation de la liqueur de Fehling est, en effet, considérable ; Fehling, lui-même, et de nombreux expérimentateurs après lui, l'ont décrite ; après 10 à 20 heures, on obtient déjà un précipité sensible si on emploie la liqueur de Fehling en une seule solution ; 50 cm³, exposés à la lumière solaire directement, seront complètement décolorés au bout de 2 mois et il ne restera plus qu'une petite quantité de cuivre.

VOLMAR (38) constate que cette instabilité de la liqueur de Fehling est due, généralement, à une altération photochimique, décomposition accompagnée de dégagement gazeux, formé surtout par de l'hydrogène. La lumière ultra-violette a une action plus énergique encore, alors qu'à l'obscurité il ne se produit rien.

Avec des échantillons de liqueur de Fehling, en deux solutions (Formule Bertrand), exposés dans les mêmes conditions, seule la solution incolore B se décompose avec mise en liberté d'hydrogène, par suite de la photolyse de l'acide tartrique qu'elle renferme. Cette solution prend alors des propriétés réductrices énergiques et réduit à chaud le sulfate de cuivre, ce qui est une cause d'erreur dans les résultats.

Nous avons tenu à confirmer ces résultats en étudiant également l'action de la lumière sur la liqueur de Bertrand. Les essais précédents sur notre réactif et sur la liqueur de Barfœd nous ont montré que ces liqueurs ne présentaient aucun phénomène d'auto-réduction. En même temps que les expériences sur l'acétate de cuivre, nous avons placé, dans des fioles triangulaires de Roux, pour bouillons de culture, un échantillon de liqueur A de Bertrand, un de liqueur B et un autre du mélange à parties égales de ces deux liqueurs. Ces fioles ont été ensuite exposées à la lumière, lumière peu intense car nos essais ont été faits en octobre et novembre.

Nous avons, d'autre part, préparé, dans les mêmes conditions, des échantillons que nous avons conservés à l'obscurité.

Au bout d'un mois environ, nous avons constaté un abondant précipité d'oxydure dans le mélange : liqueur A + liqueur B, exposé à la lumière ; le dosage nous montre, d'autre part, une diminution, en cm^3 Cu N/20, de 2 cm^3 70 par prise d'essai ; il y a donc eu une réduction très sensible.

Effectuant alors le dosage des échantillons conservés à la lumière et de ceux conservés à l'obscurité, nous trouvons :

Temps de chauffage (en minutes).	Cuivre réduit (en cm^3 Cu N/20).	
	à la lumière	à l'obscurité.
7	0,85	0,35
15	1,00	0,55
30	1,55	1,30

Les phénomènes d'auto-réduction sont donc beaucoup

plus marqués avec la liqueur conservée à la lumière qu'avec celle conservée à l'obscurité ; cette dernière n'avait d'ailleurs donné aucun précipité d'oxydure, tout au plus une très légère diminution, à peine sensible, dans le dosage du cuivre total.

Avec les liqueurs conservées séparément, nous obtenons les résultats suivants :

Temps de chauffage (en minutes).	Cuivre réduit (en cm ³ Cu N/20).	
	à la lumière	à l'obscurité.
7	0,20	0,20
15	0,35	0,35
30	0,65	0,70

Nous trouvons donc à peu près les mêmes résultats ; la lumière ne semble pas, par conséquent, avoir eu une influence très manifeste ; cependant, nos essais ayant été faits, après exposition à une lumière peu intense, nous ne pouvons en déduire que la lumière n'a aucune action.

§ III. — INFLUENCE DE LA DILUTION

Nous avons vu précédemment, qu'avec le réactif de Barfœd, l'addition d'eau avait une influence considérable sur la réduction par le glucose ; en milieu alcalin, cette influence paraît bien moindre si l'on en juge par les résultats suivants :

	Glucose (en poids).	Cuivre réduit (en cm ³ Cu N/20).
Liqueur A + liqueur B		
+ H ₂ O q. s. p ^r . 40 ^{oo}	0,02	12,40
Liqueur A + liqueur B		
+ H ₂ O q. s. p ^r . 60 ^{oo}	»	11,85

Cette étude entraîne, par suite, celle de l'influence de la concentration en alcalin et de la concentration en cuivre dans un milieu alcalin.

§ IV. — INFLUENCE DE LA CONCENTRATION EN ALCALIN

QUISIMBING et THOMAS (32), dans leur étude sur l'élimination de certaines erreurs courantes dans l'emploi de la liqueur de Fehling, montrent que : « le total du cuivre réduit s'accroît avec une concentration croissante d'ions hydroxyle jusqu'à un certain point, là où l'oxydation paraît être à son maximum ; à partir de ce point, même avec un accroissement des ions hydroxyle, la réduction diminue ; cette diminution de réduction serait due à la formation, en grande quantité, de composés à pouvoir de réduction moindre ». Ces auteurs étudient également l'influence du tartrate de soude et de potasse et montrent qu'à partir d'un certain moment la réduction par le dextrose décroît avec une concentration croissante de tartrate.

En résumé, la concentration en alcalin joue un rôle semblable à celui de la concentration en acide, mais en sens inverse.

§ V. — INFLUENCE DE LA CONCENTRATION EN CUIVRE

En milieu acide, nous avons constaté une influence considérable de la concentration en cuivre, nous avons

fait quelques essais comparatifs, en milieu alcalin, avec des quantités variables de liqueur A de Bertrand ; nous obtenons les résultats suivants :

	Glucose (en poids).	Cuivre réduit (en cm ³ Cu N/20).
10 cm ³ liqueur A		
+ 10 cm ³ liqueur B +	0,02	12,40
20 cm ³ liqueur A		
+ 10 cm ³ liqueur B +	»	12,60
5 cm ³ liqueur A		
+ 10 cm ³ liqueur B +	»	10,70

Nous obtenons donc des différences beaucoup moins sensibles qu'en milieu acide.

Pour achever la comparaison, nous avons constitué une liqueur contenant, en sulfate de cuivre, la même quantité de cuivre que 15 cm³ de réactif de Barfoed ; nous avons donc pris 1 gr., 218 de sulfate de cuivre auquel nous avons ajouté 12 cm³ de liqueur B de Bertrand, pour obtenir une solution limpide et, après avoir ajouté 0 gr., 02 de glucose, nous avons complété à 20 cm³ (volume d'une prise d'essai pour le réactif de Barfoed) ; après un chauffage de 7 minutes au bain-marie, nous obtenons une réduction de 12 cm³, 40 (en cm³ Cu N/20). Il n'y a donc pas une différence bien sensible bien que la concentration en cuivre ait augmenté du triple environ. Quisimbing et Thomas signalent : qu'avec une concentration croissante de sulfate de cuivre, la réduction totale diminue parce que l'auto-réduction de la solution s'est accrue.

§ VI. — COMPARAISON DU POUVOIR REDUCTEUR
DES SUCRES EN MILIEU ACIDE
ET EN MILIEU ALCALIN

Si nous comparons les quantités de cuivre réduit obtenues, en milieu alcalin et en milieu acide, avec 0 gr., 02 de glucose, nous constatons qu'en milieu acide la réduction est beaucoup plus lente ; mais, si on prolonge le chauffage suffisamment, on obtient une réduction plus élevée ; cette augmentation de réduction serait, peut-être, due à la concentration du cuivre qui est environ trois fois plus forte dans notre liqueur que dans la solution de Bertrand. D'ailleurs, comme nous venons de le montrer, en milieu alcalin, la concentration en cuivre n'a pas une influence très appréciable : le milieu acide paraît donc beaucoup plus sensible à l'action de la concentration en cuivre.

Avec 0 gr., 02 de glucose, nous obtenons une réduction complète au bout de 7 minutes de chauffage au bain-marie, tandis qu'avec notre liqueur la réduction croît avec le temps et n'est complète qu'après 40 minutes et plus ; mais, au bout de ce temps, on obtient une plus grande quantité de cuivre réduit ; alors qu'en milieu alcalin on obtient seulement (en cm^3 Cu N/20) 12 cm^3 , 40, en milieu acide, on obtient, après 10 minutes de chauffage, 14 cm^3 , 80 et après 40 minutes : 17 cm^3 , 40.

On peut donc dire que, en milieu acide, on obtient une réduction par le glucose aussi forte et même plus forte qu'en milieu alcalin ; mais la réduction totale, rapide en milieu alcalin, est beaucoup plus lente en milieu acide. Il semblerait donc que la différence de pouvoir réducteur du glucose, en milieu acide et en milieu

alcalin, serait plutôt une différence de vitesse de réduction.

D'autre part, si nous comparons le pouvoir réducteur du glucose et du lactose en milieu alcalin, nous voyons qu'il y a une différence de réduction assez sensible ; cette différence entre les deux pouvoirs réducteurs ne fait, en somme, que s'accentuer en milieu acide ; ce qui tendrait à prouver que la différence d'action entre ces deux corps est purement quantitative.

CHAPITRE II

INFLUENCE DES SELS ALCALINS ET ALCALINO-TERREUX

Nous avons vu précédemment, dans notre troisième partie, l'influence des sels des métaux alcalins et des métaux alcalino-terreux sur le réactif de Barfoed et sur notre liqueur. Pour compléter notre étude, nous avons refait les mêmes essais en milieu alcalin avec la liqueur de Bertrand.

Nous avons, comme l'indique Boutot dans son étude sur la méthode de Lehmann, employé :

10 cm³ de liqueur A, 10 cm³ de liqueur B et 10 cm³ de liqueur sucrée. Après un chauffage de 7 minutes au bain-marie, nous avons procédé au dosage d'après notre méthode.

§ I. — SELS DES METAUX ALCALINS

1° Sulfate de sodium. — Pour opérer dans les mêmes conditions qu'avec notre liqueur acide, nous avons ajouté à notre prise d'essai 0 gr., 10 de sulfate de sodium; après un chauffage de 7 minutes au bain-marie, nous ne trouvons aucune différence, ni dans le dosage du cuivre

total, ni dans le dosage du cuivre restant après réduction par 0 gr., 02 de glucose.

Le sulfate de sodium ne paraît donc avoir aucune influence en milieu alcalin. D'ailleurs, COOPER et WALKER (10) opérant avec le réactif de Mac Lean, dont nous avons donné la formule plus haut, ne trouvent aucune différence dans la réduction par le glucose, en présence du sulfate de sodium restant en excès après précipitation des protéines du sang.

Le sulfate de sodium n'a donc, dans ces conditions, aucune influence sur la réduction, ni en milieu alcalin, ni en milieu carbonaté.

2° **Chlorure de sodium.** — Nous avons vu précédemment, que le chlorure de sodium, à la dose de 0 gr., 08, diminuait la rapidité de la réduction de notre liqueur par le glucose ; nous avons voulu examiner si pareille influence se manifestait en milieu alcalin. Reprenant la technique de Boutot avec la liqueur de Bertrand, nous avons fait des dosages après réduction par 0 gr. 02 de glucose, en présence de 0 gr., 08 de chlorure de sodium : nous n'avons trouvé aucune différence dans la réduction avec ou sans chlorure.

Cooper et Walker ayant observé des différences avec le réactif de Mac Lean, en opérant sur des liquides ayant une concentration de 5 0/0 en chlorure de sodium, nous avons refait de nouveaux essais avec cette concentration de chlorure ; après un chauffage de 7 minutes, nous obtenons les mêmes résultats que précédemment.

Le chlorure de sodium, paraît donc, même à une concentration assez forte, n'avoir aucune influence sur la réduction, en milieu alcalin avec la liqueur de Fehling.

D'ailleurs LEWIS EYNON et HENRY LANE (12), étudiant

l'influence de différents sels sur la liqueur de Fehling, trouvaient : aucun changement avec le chlorure de potassium et le chlorure de magnésium, une légère différence avec le chlorure d'ammonium et un écart très sensible avec le chlorure de baryum et le chlorure de calcium ; mais cette différence, ainsi que nous le montrons plus loin, est due à l'ion Ca et à l'ion Ba.

Avec les trois autres chlorures, de potassium, de magnésium et d'ammonium, les auteurs étaient obligés, pour réduire complètement 10 cm³ de liqueur de Fehling, d'employer les quantités de solution sucrée que nous donnons ci-dessous :

Concentration en sel.	Chlorure de magnésium.	Chlorure d'ammonium.	Chlorure de potassium.
N/∞	25,60	25,60	25,60
N/100	25,65	25,50	25,60
N/10	25,60	25,25	25,60

On ne trouve donc, sauf pour le chlorure d'ammonium, aucune différence sensible dans la réduction et l'ion halogène Cl, qui paraît jouer un rôle considérable en milieu acide avec notre liqueur, n'exerce, ici en milieu alcalin, aucune influence sensible.

Conclusion. — En résumé, on peut dire que l'influence du chlorure de sodium, dans le milieu alcalin de la liqueur de Fehling, genre Bertrand, est nulle.

3° Bromure de potassium. — Quelques essais avec 0 gr., 16 de bromure de potassium nous ont montré que l'influence du bromure de potassium ne se faisait pas sentir en milieu alcalin.

Cooper et Walker, opérant en milieu carbonaté, trou-

vaient des différences avec une concentration en bromure de 5 0/0 ; nous avons alors refait des essais en ajoutant 2 grammes de bromure de potassium ; nous obtenons les mêmes résultats que précédemment.

Conclusion. — Le bromure de potassium n'a donc aucune influence sur la réduction, en milieu alcalin.

4° Iodure de potassium. — Nous avons étudié l'action de 0 gr., 23 d'iodure de potassium ajouté à une prise d'essai : après un chauffage de 7 minutes au bain-marie, nous obtenons les mêmes résultats que sans iodure de potassium.

Cooper et Walker ayant trouvé que l'iodure de potassium, à une concentration de 5 0/0, avait une influence sur le dosage, nous avons ajouté 2 grammes d'iodure de potassium ; après 7 minutes au bain-marie, nous trouvons, au contraire, un résultat plus élevé : une augmentation de 2 cm³, 80, qui pourrait faire croire à une augmentation de la réduction.

Conclusion. — La présence d'iodure de potassium, qui n'a aucune importance, en milieu alcalin, lorsque ce sel est en petite quantité, gêne le dosage lorsque ce même sel atteint une concentration assez forte.

5° Nitrate de sodium. — Le nitrate de sodium peut se rencontrer dans un liquide après défécation par le réactif de Patein ; nous avons examiné si sa présence pouvait avoir une influence sur le dosage. Après quelques essais en présence de 0 gr., 11 de nitrate de sodium, nous n'obtenons aucune différence, ni dans le dosage du cuivre total, ni dans le dosage du cuivre restant après réduction par 0 gr., 02 de glucose.

Boutot avait, d'ailleurs, déjà fait des essais semblables et constaté que le dosage, en présence de nitrate de sodium, donnait des résultats concordants avec le titrage d'une solution de glucose pur.

Conclusion. — Le nitrate de sodium n'a donc aucune influence sensible en milieu alcalin.

II. — SELS DES METAUX ALCALINO-TERREUX

PELIGOT, en 1879 (30), avait montré l'action retardatrice de l'hydroxyde de calcium sur la réduction de la liqueur de Fehling par les sucres ; en 1923, LEWIS EYNON et HENRY LANE (12) reprennent la question et étudient l'action des sels de calcium en général et, en particulier, celle du chlorure de calcium ; ils constatèrent ainsi des écarts considérables qu'ils retrouvent, non seulement avec les sels de calcium, mais avec tous les sels des métaux alcalino-terreux : baryum et strontium.

Prenant des solutions de sucre interverti, contenant des concentrations variables de sels, ils obtiennent les résultats suivants :

Concentration en sel.	Chlorure de calcium.	Chlorure de strontium,	Chlorure de baryum.
N/∞	25,60	25,60	25,60
N/500	25,90	26,05	25,95
N/250	26,10	26,40	26,10
N/100	26,60	27,05	26,45
N/50	27,25	27,70	27,00
N/25	27,00	28,20	27,65
N/10	26,00	26,50	27,70

Les chiffres indiquent le nombre de centimètres cubes de liqueur sucrée nécessaires pour réduire 10 cm³ de liqueur de Fehling.

Les sels alcalino-terreux diminuent donc le pouvoir réducteur des sucres.

Les auteurs firent alors des essais avec différents sucres dissous, d'une part, dans l'eau distillée ; d'autre part, dans une solution N/100 de chlorure de calcium.

	Eau distillée.	Solution N/100 CaCl ₂ .
Dextrose.	24,77	25,77
Levulose.	26,40	27,15
Lactose.	27,35	29,15
Maltose.	26,50	27,30

Cette action retardatrice se produit donc, non seulement avec le dextrose mais avec les autres sucres réducteurs : levulose, lactose et maltose.

Les essais faits, soit par la méthode volumétrique, soit par la méthode gravimétrique, leur donnèrent des résultats identiques.

Renouvelant leurs essais avec deux solutions de sucre faites, l'une avec de l'eau distillée, l'autre avec de l'eau ordinaire, ils trouvèrent : 26 cm³, 7 de la première solution et 27 cm³, 3 de la seconde, nécessaires pour réduire 10 cm³ de liqueur de Fehling ; cette différence entre les deux dosages serait expliquée par la présence de calcium dans l'eau ordinaire.

Pour remédier à cette erreur, Lewis Eynon et Henry Lane proposent d'utiliser l'oxalate de sodium ou mieux de potassium, qui précipite complètement le chlorure de calcium, tandis que le carbonate de soude, l'alumine

ou le phosphate de soude, préconisés par d'autres auteurs ne donnent pas des résultats exacts parce qu'ils ne précipitent pas tout le calcium ; d'autre part, un excès d'oxalate ne nuit pas à la réduction.

Devant ces faits, nous avons voulu savoir si nous obtenions les mêmes résultats avec les sels de baryum et les sels de calcium ; nous avons donc étudié successivement : le chlorure de calcium et le nitrate de calcium, le chlorure de baryum et le nitrate de baryum.

Sels de calcium.

Chlorure de calcium. — Afin de pouvoir comparer les résultats avec ceux obtenus avec le chlorure de sodium, nous avons ajouté à notre prise d'essai 0 gr., 15 de chlorure de calcium, quantité équivalente (en Cl) à 0 gr., 08 de chlorure de sodium.

Après un chauffage de 7 minutes au bain-marie, nous constatons une diminution de 1 cm³, 95 dans la production de cuivre réduit.

Pour obtenir la même concentration en chlorure de calcium que Lewis Eynon et Lane, nous avons ajouté à notre liqueur 0 gr., 06 de chlorure de calcium ; nous obtenons alors une diminution de 0 cm³, 95 dans la réduction ; ce qui prouverait donc que la diminution de réduction augmente, comme avec les chlorures en milieu acide, lorsqu'on opère avec une solution de chlorure de calcium de concentration de plus en plus forte.

Nitrate de calcium. — Avec 0 gr., 16 de nitrate de calcium, quantité équivalente (en Cl) à 0 gr., 08 de chlorure de sodium, nous obtenons une diminution de réduction de 1 cm³, 75.

Avec 0 gr., 20 de nitrate de calcium, pour avoir la même concentration que Lewis Eynon et Henry Lane, nous obtenons une diminution de 2 cm³, 60. Nous retrouvons donc les mêmes phénomènes qu'avec le chlorure de calcium. Comme, d'autre part, nous n'obtenions, en milieu alcalin, aucune différence dans la réduction avec les liquides contenant du chlorure de sodium ou du nitrate de sodium, c'est bien à l'ion Ca qu'il faut attribuer cette diminution de rapidité de la réduction.

Sels de baryum.

Chlorure de baryum. — Voulant vérifier notre hypothèse précédente, nous avons fait quelques essais avec le chlorure de baryum. Appliquant toujours notre même principe d'employer des quantités de chaque sel à peu près équivalentes (en Cl) à 0 gr., 08 de chlorure de sodium, nous avons effectué nos essais avec 0 gr., 16 de chlorure de baryum.

Après réduction, nous trouvons une diminution de 1 cm³, 60 ; nous retrouvons donc ici des phénomènes semblables à ceux observés avec les sels de calcium.

Nitrate de baryum. — Des essais avec 0 gr., 18 de nitrate de baryum, quantité à peu près équivalente à 0 gr., 08 de chlorure de sodium, nous montrent une diminution de réduction de 1 cm³, 65. Nous trouvons donc, ici, avec des quantités équivalentes de deux sels de baryum, la même diminution de réduction ; comme, d'autre part, le chlorure de sodium et le nitrate de sodium ne donnent rien, dans les mêmes conditions, c'est bien à l'ion Ba qu'il faut attribuer cette influence.

Conclusion pour les sels alcalino-terreux. — D'après les essais précédents, l'ion Ba et l'ion Ca semblent donc jouer un rôle retardateur dans la rapidité de la réduction de la liqueur de Fehling par les sucres réducteurs. Cette influence est en effet bien due à l'ion métal : les résultats obtenus avec des quantités équivalentes de deux sels de baryum sont sensiblement identiques ; avec les sels de calcium, nous obtenons un léger écart, mais ce dernier peut provenir de la teneur en eau de notre nitrate de calcium. D'autre part, le chlorure de sodium et le nitrate de sodium, en milieu alcalin, n'apportent aucun changement dans la réduction ; c'est donc à l'ion Ba et à l'ion Ca qu'il faut attribuer cette diminution de réduction. Ces mêmes ions, ainsi que nous l'avons vu précédemment n'ont, d'ailleurs, aucune influence en milieu acétique ; dans ce cas l'ion halogène seul agit.

Nous n'avons pas cru devoir renouveler nos essais avec les sels de strontium ; les résultats auraient été probablement les mêmes.

En tous cas, lorsque, dans un liquide sucré à examiner, on trouve une assez forte proportion de sels alcalino-terreux, il convient, pour avoir des résultats exacts, d'éliminer ces sels au moyen de l'oxalate de potassium, ainsi que le recommandent Lewis Eynon et Henry Lane.

RÉSUMÉ ET CONCLUSIONS

I. — Dans notre première partie, nous avons établi que la méthode de dosage du cuivre, avec l'hyposulfite de soude et le sulfocyanure de potassium, telle que l'indiquent Zecchini et Incze, donne de bons résultats et peut être appliquée au dosage des sucres réducteurs.

II. — Après une deuxième partie consacrée à l'étude de différents réactifs à base d'acétate de cuivre : réactif de Barfoed et réactif de Roaf, nous avons été amenés à étudier les différents facteurs qui interviennent dans le réactif de Barfoed.

De cette étude nous retenons que :

1° la concentration en cuivre a une influence considérable sur la réduction par les sucres : cette dernière augmente avec un accroissement de cuivre ;

2° l'augmentation de concentration en acide diminue la rapidité de la réduction par les différents sucres.

III. — Passant alors à l'étude de l'influence de l'acétate de soude, préconisé par Roaf, nous constatons que l'addition de ce corps au réactif de Barfoed a une double influence : elle empêche la formation de précipités basiques dus à la présence de sels alcalins ou alcalino-terreux et, en même temps, augmente la vitesse de réduction.

IV. — A la suite de nombreux essais et en nous inspirant des conclusions précédentes, nous avons pu établir un réactif qui répondait, en partie, à nos desiderata : être suffisamment sensible au glucose et ne pas être réduit par 0 gr., 10 de lactose, en fixant le temps de chauffage à 10 minutes ; un chauffage plus prolongé amènerait, en effet, une réduction par 0 gr., 10 de lactose, car dans tout réactif à base d'acétate de cuivre il semble bien qu'on ne puisse annihiler le pouvoir réducteur du lactose ; on peut simplement ralentir la vitesse de réduction.

V. — De plus, la présence de lactose, à dose *non réductrice*, dans un milieu glucosé rend difficile le dosage du glucose seul ; on obtient, en effet, une *erreur par excès*, erreur d'autant moins sensible que la quantité relative de glucose est plus forte.

VI. — D'autre part, nous avons constaté qu'après un chauffage de 10 minutes au bain-marie, la réduction par le glucose *n'est pas complète*. On se trouve alors en présence de ce dilemme : soit augmenter la durée du chauffage pour obtenir l'oxydation totale du glucose, mais alors on obtient également une réduction par le lactose : d'où diminution de la sensibilité ; soit se contenter d'un chauffage plus court qui ne donnera qu'une oxydation incomplète du glucose : ce qui diminue également la sensibilité du réactif et occasionne quelques écarts dans les résultats mais présente l'avantage de ne donner aucune réduction par le lactose.

VII. — Etudiant ensuite l'action des sels alcalins ou alcalino-terreux sur notre réactif, nous constatons que

la présence d'ions halogènes (ion Cl du chlorure de baryum ou du chlorure de sodium, par exemple), dans notre liqueur, diminue la réduction par les sucres ; mais cette diminution n'est d'ailleurs, en partie, qu'une diminution de vitesse et non point une diminution absolue de réduction.

VIII. — Quelques essais au cours de nos expériences nous ayant amené à étudier l'influence de la mannite, nous constatons qu'elle a une action semblable à celle des chlorures : diminution de la réduction.

IX. — Il nous a paru ensuite intéressant d'examiner, *en milieu alcalin, l'influence des différents facteurs* que nous avons étudiés en milieu acide. Faisant, tout d'abord, un rapprochement entre le pouvoir réducteur des sucres en milieu acide et en milieu alcalin, nous arrivons aux conclusions suivantes :

En milieu acide, on obtient une réduction par le glucose aussi forte et même plus forte qu'en milieu alcalin, mais la réduction totale est beaucoup plus lente à obtenir en milieu acide (40 minutes au lieu de 7) ; ce qui prouverait donc que la différence de pouvoir réducteur du glucose en milieu acide et en milieu alcalin est surtout une différence de vitesse de réduction.

D'autre part, la différence de pouvoir réducteur entre le glucose et le lactose, considérable en milieu acide, est cependant déjà très manifeste en milieu alcalin ; ce qui prouverait qu'il s'agit d'une différence purement quantitative.

Cette exagération de certains phénomènes, quand on passe du milieu alcalin au milieu acide, se retrouve, d'ailleurs, dans d'autres cas :

La concentration en cuivre, dont nous avons vu l'influence considérable en milieu acide, agit dans le même sens mais très faiblement, en milieu alcalin ;

La concentration en alcali, dans le milieu alcalin, a également une influence beaucoup moins sensible que la concentration en acide, dans le milieu acide. L'influence retardatrice de la mannite sur la réduction en milieu acide se retrouve en milieu alcalin quoique très atténuée.

La présence d'ions halogènes, qui diminue la vitesse de réduction par le glucose en milieu acide, n'a aucune influence en milieu alcalin.

Comme on le voit, le milieu acide paraît exagérer beaucoup de phénomènes presque inexistants ou peu sensibles en milieu alcalin ; de sorte que la différence, considérable en milieu acide, des pouvoirs réducteurs du glucose et du lactose, si on les compare à ceux du milieu alcalin, apparaît comme *un cas particulier* d'un phénomène assez général.

Signalons, par contre, que le métal des sels alcalino-terreux, sans action retardatrice en milieu acide, produit, en milieu alcalin, une diminution très nette de la vitesse de réduction.

Nous pouvons donc conclure que notre réactif, à base d'acétate de cuivre, en milieu acétique, malgré sa supériorité sur les réactifs de Barfoed et de Roaf, reste soumis à l'influence de nombreux facteurs. C'est ainsi que, pour obtenir un dosage exact de glucose en présence de lactose, il faudrait, après s'être débarrassé des sels halogénés, opérer sur une petite quantité, 50 mgr., par exemple, de sucres réducteurs, glucose et lactose et se placer dans des conditions *bien déterminées et très étroites*, en tenant compte surtout de l'influence du

temps de chauffage, de la concentration en cuivre et de la concentration en acide.

En résumé, il semble donc résulter de notre étude que l'emploi de l'acétate de cuivre, en milieu acétique, ne permet pas d'effectuer un dosage à la fois exact et sensible du glucose en présence de lactose.

Vu et bon à imprimer,

28 janvier 1924,

GRIMBERT.

Vu :

Le Doyen de la Faculté,

RADAIS.

Vu et permis d'imprimer :

Le Recteur de l'Académie de Paris,

P. APPELL.

BIBLIOGRAPHIE

1. I. BANG. — *Über die Microbestimmung des Blutzuckers*. [Bioch. Zeit., LXXXVII (1918), p. 248-58].
2. BARFOED. — *Lehrbuch der Organischen qualitativen Analyse*. [1 vol. Kopenhagen (1881), p. 192-226.]
3. BAUZYL et BOYER. — *Sur le dosage du glucose dans le sang*. [J. Ph. Ch. XVI (1917), p. 171-79.]
4. G. BERTRAND et THOMAS. — *Guide pour les manipulations de chimie biologique*. [1 vol., Dunod et Pinat édit. (1919), p. 85.]
5. L. BOUTOT. — *Contribution à l'étude du dosage des sucres réducteurs au moyen des liqueurs cupro-alkaline*. (Thèse de Pharmacie. Paris, 1922.)
6. BROCARD. — *De la glycosurie de la grossesse*. (Thèse de Médecine. Paris, 1922.)
7. G. BRUHNS. — *Messung des Kupfers mittels Rhodankalium Jodkalium und Thiosulfat* [Chem Zeit. XLII 1918), p. 301-2.]
8. CASTELLANI AND F.-E. TAYLOR. — *The detection of sucrosuria, inosuria and lactosuria by a mycological method*. [Physiol. Abs. IV (1919), p. 83.]
9. W.-B. CLARCK. — *Volumetric determination of reducing sugars*. [J. of Am. Chem. Soc. XL^{II} (1918), p. 1759-72.]
10. E.-A. COOPER AND H. WALKER. — *Further observations on the nature of the reducing substance in Human blood*. [Bioch. J. XVI (1922), p. 455-59.]
11. F. CROLAS et B. MOREAU. — *Précis de Pharmacie chimique*. [1 vol. Maloine, édit. (1920), p. 361.]
12. L. EYNON et J.-H. LANE. — *The influence of alkaline earths on the determination of reducing sugars by Fehling's solution*. [J. of Soc. of Ch. Ind. XLII (1923), p. 143-46 T.]
13. TH. VON FELLEBERG. — *Dosage titrimétrique de plusieurs sucres en mélange*. [An. Ch. Anal. XXV^e année (1920), p. 372, d'après : Mitt aus dem Gebiete der Lebensmittelunters und Hygiène (1920), p. 129.]

14. P. FLEURY et L. BOUTOT. — *Etude du procédé Lehmann, modifié pour le dosage du glucose. Adaptation aux petites quantités de sucres réducteurs* [Bull. Soc. Ch. IV n° 7 (1922), p. 361-74.]
15. O. FOLIN AND H. WU. — *A system of blood Analysis*. [J. of Biol. Chem. XXXVIII (1919), p. 81-110.]
16. R. FRÉSÉNIUS. — [Zeitschrift für analytische Chemie, XXVI (1887), p. 77.]
17. GARNIER. — *Dosage volumétrique de la glucose. Modification du procédé Haen-Lehmann* [J. Ph. Ch. [6] IX (1899), p. 326-30.]
18. L. GRIMBERT. — *Dosage des sucres réducteurs par la méthode de Lehmann*. [J. Ph. Ch. [7] VII (1913), p. 105-109.]
19. GUIART et GRIMBERT. — *Diagnostic clinique, microscopique et parasitologique*. [1 vol., Lemaire, édit. (1922), p. 869.]
20. CH.-O. GUILLAUMIN. — *Sur le dosage de petites quantités de sucres réducteurs ; technique du dosage de précision* [J. Ph. Ch. [7] XXII (1920), p. 327-335.]
21. E. DE HAEN. — *Einfache und genaue Methode zur volumetrischen Bestimmung des Kupfers* [An. Ch. und Phar. XCI (1854), p. 237-39.]
22. E. HILDT. — *Dosage du glucose en présence de lactose*. [An. Ch. Anal. XXV^e année, 2^e série (1920), p. 78-80.]
23. G. INCZE. — *Über eine handliche Methode zur Kupfersulfatbestimmung in Kupfervitriolen des Handels*. [Zeit. für anal. Chem., LIV (1915), p. 252-55 et p. 412-13.]
24. LE GRAND. — *Dosage du lactose en présence d'autres sucres réducteurs*. [An. des fals. et des fraudes, XIV (1921), p. 132-36 et p. 268.]
25. K.-B. LEHMANN. — *Neue Zucker bestimmungsmethode*. [Chem. Zentr. (1897 II), p. 233 d'après : Stzg. d. phys. med. Ges. Würzburg.]
26. MAQUENNE. — *Sur le dosage du glucose par la méthode de Lehmann*. [Bull. Soc. Chim. XIX (1898), p. 926.]
27. L. MARGAILLAN. — *Sur la séparation du saccharose d'avec le lactose par le ferment bulgare*. [C. R. CL (1910), p. 45-46.]
28. A.-P. MATHEWS. — *Easy method for the destruction and estimation of lactose and glucose in urine*. [Chem. Abs. XV (1921), p. 542, d'après J. Am. med. Assoc. LXXV (1920), p. 1658-59.]
29. PATEIN et DUFAU. — *De l'emploi du nitrate acide de mercure dans l'analyse des liquides sucrés*. [J. Ph. Ch. XV (1902), p. 221-26.]

30. E. PELIGOT. — *Sur quelques propriétés des glucoses.* [C. R. LXXXIX (1879), p. 918.]
31. PORCHER. — *De la caractérisation du glucose dans les urines au moyen de la phenyl-hydrazine et de la diagnose du lactose, en présence de glucose.* [Extrait du rapport du V^e Congrès international de Chimie appliquée, Berlin 1903.]
32. F.-A. QUISIMBING and A.-W. THOMAS. — *Conditions affecting the quantitative détermination of reducing sugars by Fehling solution. Elimination of certain errors involved in current methods.* [J. of Am. Ch. Soc. XLIII (1921), p. 1503-26.]
33. A. REYNOSO. — *Faits pour servir à l'histoire de la double décomposition saline. Action du glucose sur les sels de cuivre en présence des acétates.* [C. R. XLI (1855), p. 278.]
34. E. RIEGLER. — *Ein neues titrimetrisches Verfahren zur Bestimmung des Traubenzuckers, Milchzuckers sowie auch anderer durch Fehling'sche Lösung reducirbarer Körper.* [Zeit. anal. Chem., XXXVII (1898), p. 22-25.]
35. ROAF. — *An Improved Form of Barfæds reagent.* [J. of Physiology. LIV (1921, Proceedings of the Physiological Society, Novembre 1920-IX.)]
36. N. SCHOORL UND J.-M. KOLTOFF. — *Quantitative zuckerbestimmung.* [C. Zentr. (1918-II), p. 477, d'après : Pharmaceutisch Weckblad, LV p. 344-45.]
37. W. THALHIMER AND MARGARET C. PERRY. — *Quantitative détermination of glucose and lactose in blood and urine.* [Chem. Abs., XVII (1923), p. 1042, d'après : J. Am. Med. Asso. LXXXIX (1922), p. 1506-8.]
38. VOLMAR. — *Photolyse de l'acide tartrique et des acides alcools.* [C. R. CLXXVI (1923), p. 742-44.]
39. M. ZECCHINI. — *Méthode pour l'estimation rapide du cuivre employé pour la culture de la vigne.* [Ch. Zentr. (1899, I), p. 1085, d'après Staz. sperim agrar. ital. XXXII, p. 117-22.]
-

TABLE DES MATIÈRES

PREMIERE PARTIE

Méthode de dosage.

CHAPITRE I. — Choix d'une méthode de dosage	3
CHAPITRE II. — Etude d'une modification de la méthode de Zecchini	10
ANNEXE. — Considérations théoriques sur quelques méthodes de dosage des sels cuivriques par réduction à l'état cuivreux	22

DEUXIEME PARTIE

Etude des différentes méthodes de dosage différentiel des sucres réducteurs au moyen de l'acétate de cuivre.

PRÉLIMINAIRES	25
CHAPITRE I. — Méthode de Barfoed	28
CHAPITRE II. — Méthode de Le Grand	30
CHAPITRE III. — Méthode de Roaf	35

TROISIEME PARTIE

Etude sur un réactif à base d'acétate de cuivre.

CHAPITRE I. — Essais préliminaires	39
CHAPITRE II. — Influence des différents constituants de la liqueur de Barfoed	45
CHAPITRE III. — Influence de l'acétate de soude sur la liqueur de Barfoed	56
CHAPITRE IV. — Constitution d'une liqueur	57

CHAPITRE V. — Essais sur la liqueur précédemment établie..	73
§ I Auto-réduction	73
§ II Réduction par différents sucres	74
§ III Influence des sels	82

QUATRIEME PARTIE

Réduction des sels de cuivre par le glucose en milieu acide et en milieu alcalin. Etude comparative.

CHAPITRE I. — Influence des différents constituants	101
CHAPITRE II. — Influence des sels	110
RESUME ET CONCLUSIONS	119
BIBLIOGRAPHIE	124

